



Universidad Autónoma de Madrid



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA, HISTOLOGÍA Y
NEUROCIENCIA

Estudio y aplicación de métodos matemáticos
para determinar la conectividad funcional entre
series temporales de origen neurofisiológico

TESIS DOCTORAL

Nazareth Perales Castellanos

Abril 2008

Estudio y aplicación de métodos matemáticos para
determinar la conectividad funcional entre series
temporales de origen neurofisiológico

Trabajo de Investigación que presenta
NAZARETH PERALES CASTELLANOS
para optar al grado de Doctora en Medicina y Cirugía
por la Universidad Autónoma de Madrid

dirigido por
VALERI A. MAKAROV
Profesor del Departamento de Matemática Aplicada
de la Facultad de Matemáticas de la
Universidad Complutense de Madrid

y tutor
CARLOS AVENDAÑO TRUEBA
Catedrático de Anatomía y Neurociencia
del Departamento de Anatomía, Histología y
Neurociencia de la Facultad de Medicina de la
Universidad Autónoma de Madrid

Madrid, Abril de 2008

ÍNDICE

1. Introducción.....	2
I. Circuitos neuronales	2
II. Tipos de conectividad	5
III. Escalas espaciales en los registros de la actividad neuronal	12
2. Objetivos	25
3. Datos experimentales.....	28
3.1 Trenes de disparo.....	28
3.1.2. Núcleo trigeminal.....	31
3.2 Potenciales de campo local (Local Field Potencial, LFP)	34
3.3 Electroencefalogramas (EEG)	36
4. Datos simulados y semi-simulados	39
4.1 Generación de trenes de disparos con redes neuronales artificiales.....	39
4.2 EEG semisimulados.....	42
5. Métodos matemáticos	44
5.1 Conectividad funcional.....	44
5.1.1 Dominio de tiempo: Histograma de correlación.....	45
5.1.2 Dominio de frecuencia (Transformada de Fourier).....	46
5.1.3 Test de significancia estadística.....	54
5.1.4 Dominio de tiempo – frecuencia (Transformada wavelet)	55
5.2 Reducción de la dimensión.....	72
5.2.1 Análisis de componentes principales	72
5.2.2 Análisis discriminante lineal	77
5.3 Supresión de artefactos	81
5.3.1 Análisis de componentes independientes	81
5.3.2 Análisis de componentes independientes filtradas wavelet, wICA ...	82
6. Resultados	89
6.1 Evaluación de los métodos de determinación conectividad funcional para trenes de disparos	89
6.2. Eliminación de artefactos en el EEG y determinación y discriminación de circuitos cortico-corticales.....	101
6.2.1 Eliminación de artefactos en el EEG	101
6.2.2 Circuitos cortico-corticales	124
6.2.2 Discriminación de estados	128

6.3 Interacción entre las áreas visuales de los dos hemisferios cerebrales dependiente del estímulo.....	130
6.4 Conectividad espectro temporal a partir de trenes de disparos	149
6.4.1 Modulación corticofugal en la coherencia de la respuesta táctil de las neuronas de proyección del núcleo gracil	152
6.4.2 Respuesta de las neuronas del núcleo trigémino espinal ante un estímulo de distracción.....	178
7. Discusión.....	190
8. Conclusiones.....	208
9. Bibliografía.....	211

INTRODUCCIÓN

1. Introducción

I. Circuitos neuronales

La gran habilidad del sistema nervioso para realizar tareas tan complejas como la percepción, cognición, o el movimiento del cuerpo, dependen de la cooperación de diferentes estructuras que procesen la información sensorial proveniente de un gran número de fuentes, tanto internas como externas. El procesamiento de la información sensorial requiere de la presencia de áreas perceptivas a la naturaleza física del estímulo en cuestión y a la vez, por muy sencillo que éste sea, de la coordinación de diferentes estructuras que permitan reconstruir la escena en su globalidad. Por tanto, toda percepción conlleva la simultaneidad de diversos procesos de diferente funcionalidad y complejidad, que trabajan en distintas escalas espacio-temporales y zonas del cerebro de forma jerarquizada y conjunta. Es decir, el procesamiento de la información requiere simultáneamente de *segregación*, con áreas especializadas en la naturaleza del estímulo que se percibe, y de *integración* para alcanzar una cooperación global entre áreas. De esta forma el cerebro es capaz de generar información de forma compleja, llevando a cabo simultáneamente varias etapas de procesamiento. Además el sistema nervioso es dinámico, capaz de reaccionar ante un entorno continuamente cambiante, generando e integrando información en tiempo real. Podemos decir por tanto que el sistema nervioso es la red compleja por excelencia.

Dicotomía segregación-integración funcional en el cerebro

Existen numerosas evidencias experimentales (véanse por ejemplo las revisiones de Tononi et al., 1994; Engel et al., 1997; Mountcastle, 1998) de la segregación e integración funcional de la información en el cerebro, centradas principalmente en la corteza cerebral. La corteza se ha subdividido en compartimentos caracterizados por las propiedades de sus respuestas y sus conexiones con otras estructuras. Esta parcelación es bastante pronunciada en regiones de la corteza como la somatosensorial (Kandel y Jessell, 1991), auditiva (Nelly, 1991) y la motora (Kalaska y Crammond, 1992). Sin embargo el

ejemplo más estudiado se muestra en la corteza visual, donde por ejemplo en el caso del mono se han clasificado más de 30 áreas visuales diferentes (Livingstone y Hubel, 1988; Zeki y Shipp, 1988; Felleman y von Essen, 1991). Como en los otros sistemas corticales la parcelación de la corteza visual está relacionada con su especialización funcional. Las neuronas en cada una de las áreas visuales son, al menos en un cierto grado, selectivas a un sub-conjunto característico de los atributos del estímulo visual. Algunas áreas están dedicadas, por ejemplo, al análisis del movimiento, otras al color mientras otras procesan la textura y las formas. Esta subdivisión funcional deja intuir cómo se representan los objetos en el sistema visual: un estímulo visual activa células en varias áreas visuales quedando representado como un único patrón de activación distribuida sobre dichas áreas visuales. Este problema llamado “binding” (Treisman, 1996; Von der Malsburg, 1995) es aplicable a otros campos de la percepción, lo que origina un esquema de codificación distribuido, que tiene como ventaja un uso muy económico de las neuronas ya que una célula selectiva a una propiedad en particular puede participar en la representación de todos los estímulos visuales que contengan dicho atributo. Otra ventaja es que objetos parecidos, que difieren sólo en pocos atributos, provocan patrones que son más similares que aquellos provocados por objetos que difieren en más aspectos lo que facilita la generalización entre patrones relacionados.

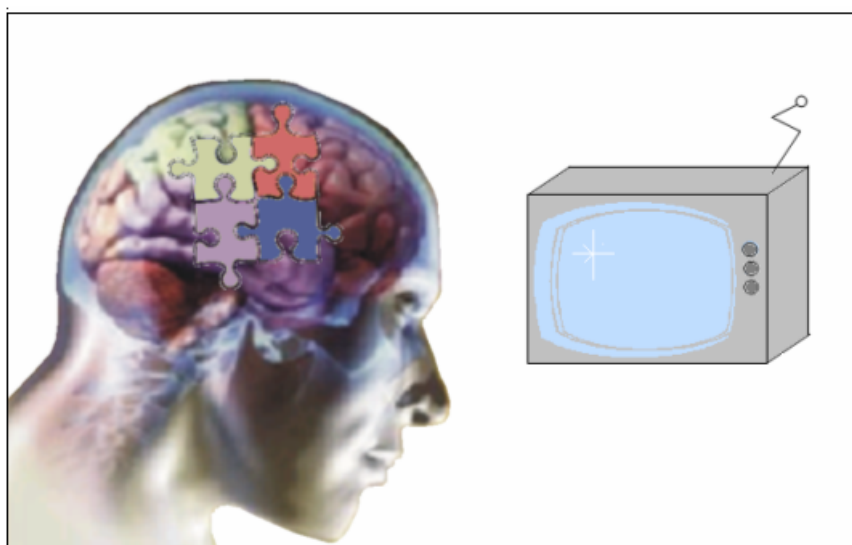


Figura 1: Segregación-integración. Muchos procesos generándose a la vez (razonamiento, emoción, visión, audición, percepción del lenguaje) para generar un fenómeno de cognición.

Aunque esta codificación de red distribuida proporciona en principio una estrategia eficiente y flexible (Edelman, 1987; Gerstein *et al.*, 1997; Palm, 1990) surge la cuestión de cómo se integra tal actividad distribuida para dar lugar a una representación no ambigua de los objetos visuales. Además, esta estrategia se encuentra con el problema de que cualquier escena real contiene más de un objeto simple, lo que provoca un problema de superposición: neuronas que responden a uno de los objetos (o atributos de éste) son, en principio, indistinguibles de neuronas que responden a otro objeto o atributo. Una opción para solventar este problema se remonta a 1949 cuando Hebb sugirió que la representación podría llevarse a acabo por redes neuronales, es decir por poblaciones distribuidas de neuronas que interactúan cooperativamente y que en conjunto determinan la presencia de un objeto en particular. Más tarde autores como von der Malsburg (1981, 1995), Abeles (1982) y Milner (1974) formalizaron este concepto de integración. Estos autores sugieren que podría eliminarse esta ambigüedad en la representación distribuida apoyándose en los tiempos precisos del potencial de acción de las neuronas, lo que se conoce como el problema de “*temporal binding*”. Las neuronas que responden a varios atributos de la componente de una imagen podrían sincronizar sus descargas en una escala temporal fina, mientras que neuronas que responden a diferentes atributos no dispararan en sincronía. Una ventaja crucial de esta estrategia de codificación es que permite la existencia de múltiples redes activas simultáneamente sin ser confundidas (von der Malsburg, 1981, 1995; Engel *et al.*, 1992; Singer y Gray, 1995).

Por otra parte, detallados estudios anatómicos muestran la existencia de un engranaje de vías anatómicas entre áreas corticales (Edelman, 1978, 1987, Felleman y Van Essen, 1991; Scannell *et al.*, 1995, 1999;) y dentro de un área cortical, de forma que incluso grupos de neuronas distantes pueden estar unidas mediante conexiones a gran escala formando una densa red (Gilbert y Wiesel, 1989). Dichas vías de conexión proporcionan un sustrato estructural para la integración funcional entre poblaciones neuronales a diferentes escalas espaciales permitiendo así la correlación espacio-temporal entre y en las áreas corticales (Edelman, 1978, 1987).

Resumiendo, podemos decir que la investigación del procesamiento de la información durante el último siglo ha estado marcada por una dicotomía: mientras que muchos neuroanatómicos han trabajado para cerciorarse de cómo las diferentes poblaciones neuronales se conectan para formar una red, los neurofisiólogos han enfocado su atención en determinar la especialización funcional de los sistemas registrados, ya sean neuronas individuales o grupos celulares. Por una parte la segregación funcional requiere que los disparos de grupos de neuronas con diferente especialización sean mutuamente independientes. Mientras que por otra, la integración funcional requiere que sus actividades conjuntas sean altamente coherentes. La integración debe ocurrir entre un gran número de poblaciones neuronales especializadas y de áreas segregadas en el cerebro, conllevando cambios en los subgrupos de sus componentes dependiendo del estado funcional del organismo, sus señales de entrada habituales y su comportamiento motor. La controversia que conlleva la coexistencia en el cerebro de la segregación funcional y su integración ha sido estudiada también desde el punto de vista teórico. Tononi *et al.* (1994) propusieron una medida basada en la entropía y la información mutua llamada Complejidad neuronal (C_N) para capturar la convivencia entre esos dos procesos fundamentales en la organización del cerebro. En este contexto se expresa la segregación funcional de un sistema neuronal en términos de la independencia estadística relativa de un sub-conjunto pequeño del sistema y la integración funcional en términos de las desviaciones estadísticas de un sub-conjunto mayor. De esta forma, sistemas con valores de C_N bajos están caracterizados por componentes de total dependencia o independencia; y valores de C_N altos suponen independencia en pequeños sub-conjuntos y una creciente dependencia en grupos mayores.

En conclusión, desde el punto de vista de esta contradicción implícita podemos decir que el procesamiento de la información que acompaña a estados cognitivos está asociado con la cooperación de áreas o grupos neuronales segregados y distribuidos.

II. Tipos de conectividad

En el contexto de cómo de arraigada está la capacidad de integrar información a la anatomía o a la fisiología, o qué clases de patrones de conexión permite la

combinación conjunta de segregación e integración surge la necesidad de definir las diferentes clases de conectividad. Por una parte debemos considerar el sustrato anatómico o estructural, y por otra la dinámica temporal de las neuronas o sus poblaciones lo que da lugar a patrones de dependencia (estadística) entre los sistemas (conectividad funcional) y sus interacciones causales (conectividad efectiva).

A nivel neuronal, Aertsen, Gerstein, Perkel y sus colaboradores fueron los pioneros en el análisis matemático de registros electrofisiológicos simultáneos de múltiples unidades (Gerstein y Perkel, 1969; Gerstein, 1970; Gerstein y Arresten, 1985; Aertsen *et al.*, 1989, 1994; Aertsen y Preissl, 1991). Fue en este contexto donde surgieron por primera vez los conceptos de conectividad neuronal funcional y efectiva (Aertsen y Preissl, 1991). Se definió conectividad funcional como la coherencia temporal entre los disparos de diferentes neuronas, y fue medida usando la correlación cruzada. Sin embargo la conectividad efectiva es un concepto más abstracto. Se define como el circuito más simple que podría reproducir las mismas relaciones temporales observadas experimentalmente entre un par de neuronas componentes de una red neuronal. Por tanto la conectividad efectiva no tiene una relación univalente con la conectividad anatómica ya que más de una red neuronal podría mostrar al mismo comportamiento global.

Son pocos los estudios realizados sobre la conectividad función a nivel mesoscópico, a partir de los potenciales de campo local (LFP). Recientemente se ha abarcado este tema desde el contexto de la teoría de sistemas dinámicos complejos para estudiar los circuitos neuronales en la corteza visual durante el procesamiento de la información visual (Carmeli *et al.*, 2007). En este trabajo los circuitos neuronales se consideran como una entidad global descrita por el grado de sincronización de las respuestas de los potenciales de campo medio.

A nivel macroscópico, la electroencefalografía (EEG) fue el primer método para examinar el cerebro humano in vivo de forma no invasiva. El uso de estos datos tenía como propósito original determinar la interactividad (funcional o efectiva) entre regiones corticales (Adey *et al.*, 1961; Barlow y Brazier, 1954; Gevins *et al.*, 1985; Livanov, 1977). Se han empleado varios métodos matemáticos que pretendían capturar la correlación en el dominio de

frecuencias entre pares de señales registradas por los electrodos en el cuero cabelludo en presencia estímulos de diferente naturaleza.

Recogiendo estos detalles se definen las tres siguientes grandes modalidades de la red cerebral.

Conectividad anatómica: Es el conjunto de conexiones estructurales o físicas (sinápsis) que unen neuronas o áreas neuronales (Fig. 2). Los datos de la conectividad anatómica pueden encontrarse en diferentes escalas espaciales, desde los circuitos locales a las redes a gran escala de vías inter-regionales. Los patrones de conexión anatómica son relativamente estáticos en escalas temporales cortas, segundos o minutos, pero pueden ser dinámicos a escalas de tiempo más largas (horas o días), por ejemplo durante el aprendizaje o el desarrollo.

Conectividad funcional: Captura el patrón de dependencia (estadística) entre sistemas neuronales distribuidos (Fig. 2), a veces remotos espacialmente (Friston, 1994) sin hacer referencia explícita a sus efectos causales. La conectividad funcional puede depender del tiempo (en escalas de cientos de milisegundos). Las técnicas de evaluación de la interacción entre unidades o poblaciones neuronales deben capturar el aparentemente opuesto requerimiento de mantener la especialización local a la vez que permiten la coherencia global.

Conectividad efectiva: Describe el conjunto de efectos causales de un sistema neuronal sobre otro (Friston, 1994). Por tanto, al contrario que la conectividad funcional, la conectividad efectiva requiere la especificación de un modelo causal que incluya los parámetros estructurales. Experimentalmente, la conectividad efectiva puede inferirse a través de perturbaciones o a través de la observación de la secuencia temporal de los eventos neuronales (espigas).

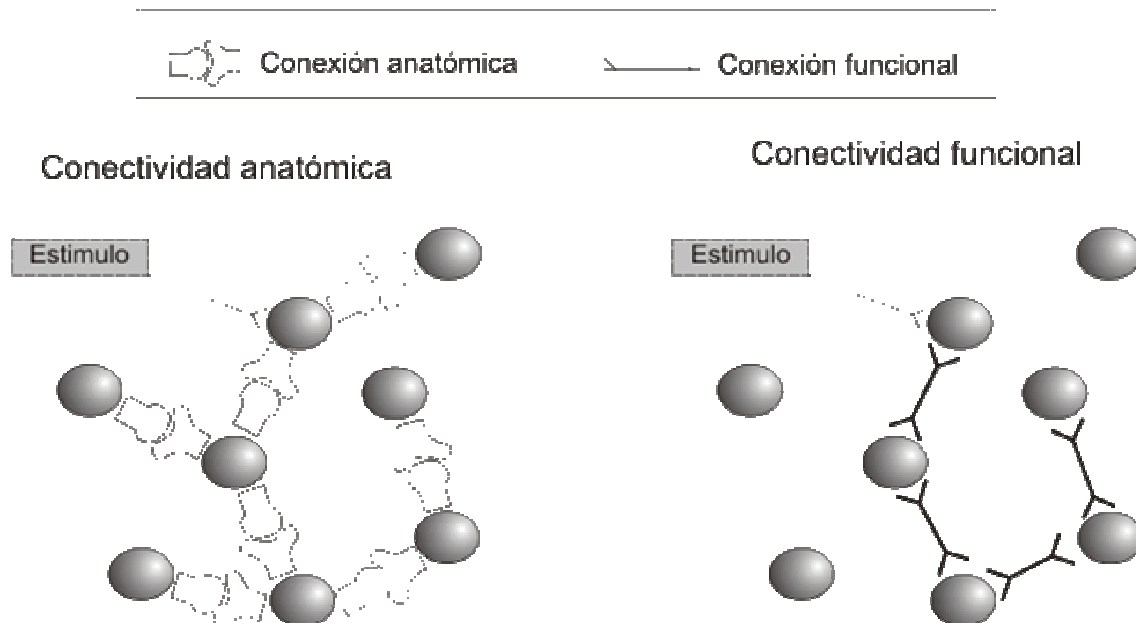


Figura 2: Conectividad anatómica como conjunto de conexiones estructurales entre neuronas. Conectividad funcional como patrón que capta las dependencias (estadísticas) entre las neuronas.

Los patrones de conectividad funcional y efectiva en general son dinámicos, es decir pueden evolucionar en el tiempo reflejando así una participación dinámica de subconjuntos de regiones cerebrales y vías en diferentes tareas cognitivas (Bressler, 1995; McIntosh *et al.*, 2003; Varela *et al.*, 2001; Büchel y Friston, 2000), estados de atención o comportamiento (Büchel y Friston, 1997), cambios en el sustrato relacionado con el aprendizaje (Büchel *et al.*, 1999) o por ejemplo en redes celulares hebbianas (Hebb, 1949). La conectividad anatómica está en la base de cualquier clase de patrón de conectividad funcional o efectiva que pueden ser generados en una red. Las señales de entrada y salida anatómicas de una región en particular caracterizan sus propiedades funcionales. Por ejemplo, Passingham *et al.* (2002) mostraron que cada área cortical tiene un único patrón de entrada y salida, lo que se denominó “*huella de conexión*”, y argumentan que es el mayor determinante de la función de ese área. De forma inversa, las interacciones funcionales pueden contribuir a la formación del sustrato anatómico subyacente, ya sea directamente a través de una modificación sináptica dependiente de la actividad o en largas escalas de tiempo, a través de aquello que afecta a las capacidades cognitivas y de percepción del organismo así como a su adaptación y supervivencia. La noción de “quienes disparan juntos

permanecen unidos” (Löwel y Singer, 1992) ha encontrado apoyo experimental en una gran variedad de sistemas en desarrollo. Estos hallazgos sugieren que la conectividad funcional puede contribuir a formar la conectividad anatómica durante el desarrollo, proporcionando un mecanismo de ajuste subyacente a la cartografía cerebral.

Sincronización como mecanismo de interacción

En los últimos años, experimentos electrofisiológicos y de neuroimagen así como simulaciones matemáticas de redes neuronales han contribuido a la comprensión de los mecanismos neuronales que subyacen y determinan la conectividad funcional. Son numerosos los estudios que han mostrado por ejemplo que neuronas en la corteza y regiones subcorticales pueden sincronizar sus disparos con una precisión en el rango de milisegundos (Engel et al., 1992; Aertsen y Arndt, 1993; Köning y Engel, 1995; Singer y Gray, 1995).

La primera evidencia experimental de la interacción dinámica se mostró en la década de los 80 (Hubel y Wiesel, 1981; Eckhorn *et al.*, 1988) en neuronas selectivas a la orientación en la corteza visual primaria del gato, donde se mostró que células separadas espacialmente mostraban una fuerte sincronización sólo si respondían al mismo objeto visual. Sin embargo, en el caso de dos estímulos diferentes, las células disparaban de una forma menos correlacionada e incluso sin ninguna relación temporal (Gray y Singer, 1989). Además se empezó a observar un llamativo comportamiento, la emergencia de estados sincronizados estaba asociada frecuentemente con un patrón de disparo oscilatorio en las neuronas correspondientes (Eckhorn *et al.*, 1988; Gray *et al.*, 1989; Engel *et al.*, 1990, 1991, Kreiter y Singer, 1992, 1996; Köning *et al.*, 1993, 1995; Frien *et al.*, 1994; Roelfsema et al.; 1994, 1997, Gray y McCormick, 1996; Gray y Viana di Prisco, 1997). Se observó que con una apropiada estimulación, neuronas vecinas tendían a interaccionar mediante descargas y mostraban un patrón de disparo oscilatorio a una frecuencia en el rango gamma entre 30 y 80 Hz (Fig 3). Estos resultados sugieren por primera vez que la sincronización entre neuronas puede desempeñar un papel clave en la percepción, lo que abrió el debate sobre el papel de la correlación temporal en el problema binding, y sobre si las oscilaciones en las respuestas

neuronales podrían ser relevantes para la interacción de neuronas distribuidas y la formación de redes.

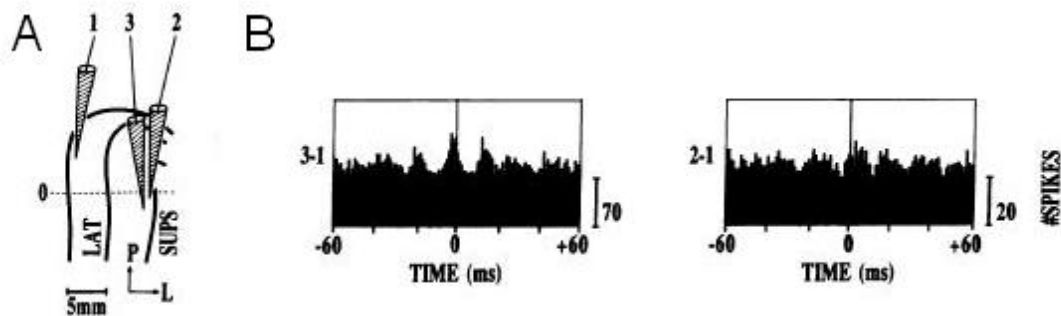


Figura 3: Sincronización de las respuestas oscilatorias entre las áreas 17 y la corteza parietal (PMLS) del gato. A). Posición de los electrodos de registro en el área 17 (electrodo 1) y en PMLS (electrodos 2 y 3). B) Histogramas de correlación cruzada entre la neurona registrada en el área 17 y las dos neuronas registradas en PMLS. Las respuestas de los pares 3-1 y 2-1 muestran un grado de sincronización significativa. Sin embargo, la interacción entre 2-1 es más debil.

Estos hallazgos en animales han inspirado estudios con el ánimo de demostrar la presencia de actividad sincronizada en las respuestas a estímulos sensoriales y cognitivos en humanos. Debido a que los registros a nivel celular son altamente invasivos la mayoría de los estudios se han realizado a partir de EEGs. Estas señales representan la suma de la actividad sobre una gran población de neuronas locales y por tanto la presencia de una potencia destacada a una frecuencia dada puede interpretarse como una medida indirecta de la sincronización en esa población. Esta interpretación data de 1970 cuando se establecieron las bases de análisis de los potenciales provocados y los cambios en las diferentes bandas de frecuencia, fenómeno llamado sincronización-desincronización relacionada al evento (Pfurtscheller, 1998). Lutzenberg *et al.* (1994) encontraron que una reducción en la potencia de la banda de frecuencia gamma en el EEG ante la percepción de pseudo-palabras (palabra carente de significado pero con un sonido similar a una palabra conocida) frente a la potencia en dicha banda que genera la audición de una palabra. Pulvermüller *et al.* (1996) confirmó estos hallazgos a partir de los registros magnetoencefalográficos (MEG) y centrándose en las bandas

gamma y beta. Lachaux *et al.* (2000) trabajaron sobre la banda gamma en la respuesta de los LFP ante la discriminación de tareas.

Aunque los cambios en la sincronización local pueden intuirse mediante los cambios en la potencia de las distintas bandas de frecuencia del EEG, esta es una medida indirecta y puede confundirse con los cambios en la actividad global de la población neuronal subyacente. Aunque los efectos de la sincronización local, como aquellos encontrados en la corteza visual del gato, no pueden detectarse expresamente en el EEG debido a su baja resolución espacial, la señal de EEG es sin embargo de gran utilidad para investigar la sincronización a larga escala entre diferentes áreas del cerebro como un indicador de la integración funcional.

A partir de este momento han surgido numerosos estudios, sobre todo en la corteza cerebral, que apoyan el papel funcional de la sincronización mostrando la existencia de actividad correlacionada temporalmente dependiente del estímulo en el área visual (Gray *et al.*, 1989), auditiva (deCharms y Merzenich, 1996), frontal (Vaadia *et al.*, 1995), y motora (Donoghue *et al.*, 1998; Murthy y Fetz, 1996) o entre las áreas sensorial y motora (Bressler *et al.*, 1993; Ding *et al.*, 2000) o mediada por el cuerpo calloso (Engel *et al.*, 1991, Innocenti 1987, Makarov *et al.*, 2007). También se ha mostrado que un incremento de la atención conlleva un aumento de la sincronización de la actividad (Steinmetz *et al.*, 2000). La sincronización en los disparos no está sólo circunscrita a la corteza cerebral ya que también tiene lugar a nivel subcortical.

¿Cuál es la evidencia de que cambios en la conectividad funcional estén asociados con procesos cognitivos y de cómo la conectividad funcional puede ser evaluada y observada experimentalmente? Diferentes estudios, sobre todo de neuroimagen, pretendían identificar qué regiones del cerebro muestran un incremento o disminución de la actividad durante una tarea dada. Sin embargo, son más abundantes los trabajos en los que se estudian los estados cognitivos en el contexto de cambios en la conectividad funcional, es decir en términos de qué regiones están correlacionadas. Existen numerosos ejemplos de cambios en la conectividad funcional, la mayoría de ellos entre regiones corticales en sujetos humanos despiertos, entre los que destacan los trabajos del grupo de Varela (Varela, 1995; Rodríguez *et al.*, 1999; Lachaux *et al.*, 1999; Lachaux *et*

al., 2000; Varela *et al.*, 2001) y otros (por ejemplo, Classen *et al.*, 1998; McIntosh *et al.*, 1999; Srinivasan *et al.*, 1999, von Stein *et al.*, 2003).

III. Escalas espaciales en los registros de la actividad neuronal

Según se ha discutido, la percepción es un proceso dinámico complejo que conlleva la operación simultánea en múltiples escalas espaciales, desde la interacción de neuronas individuales hasta regiones ampliamente separadas en cada una de las distintas estaciones del sistema nervioso (Fig. 4).

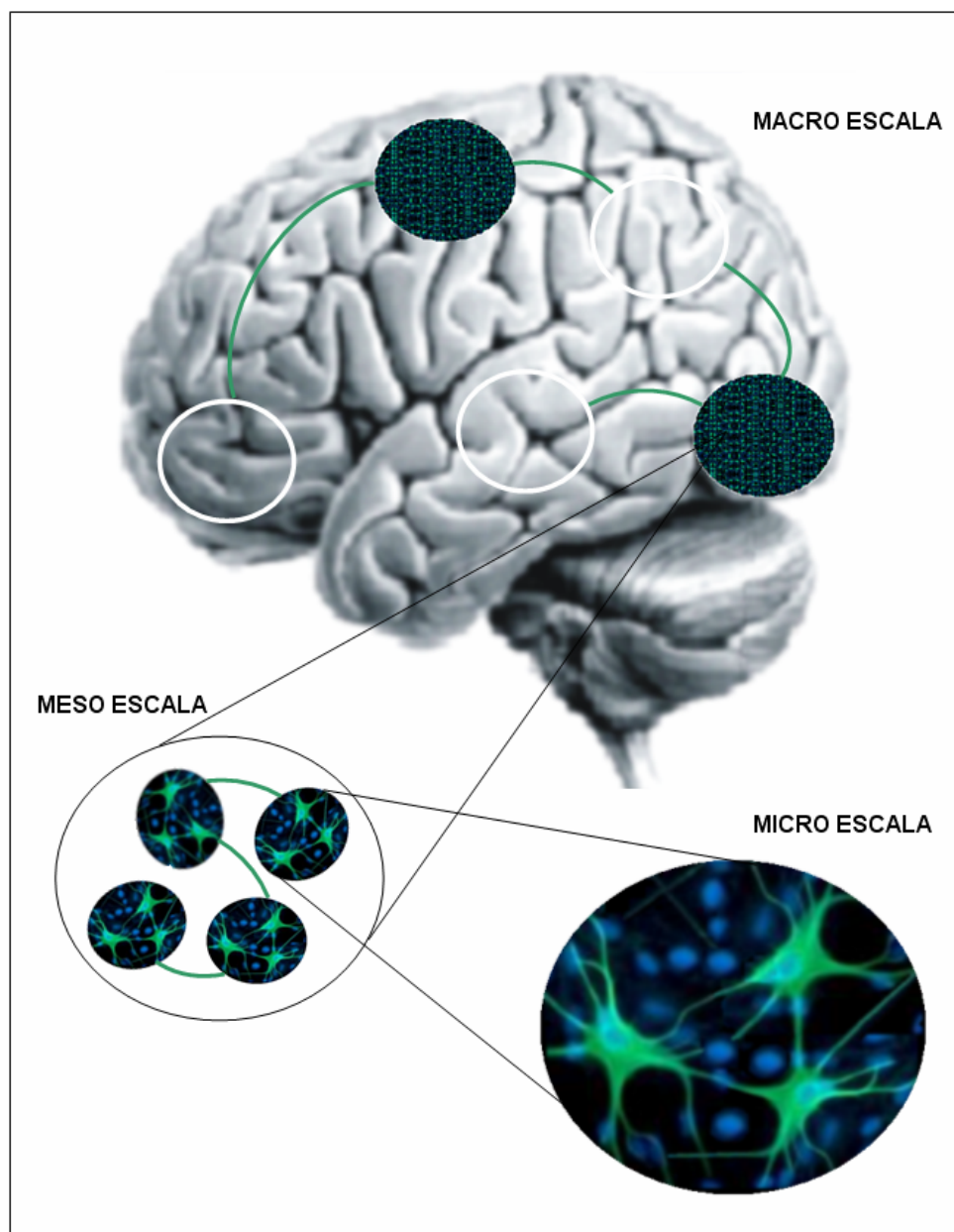


Figura 4: El procesamiento de la información que acompaña a estados cognitivos está asociado con patrones de conectividad, tanto anatómica como funcional, entre grupos neuronales distribuidos y áreas. En dicho procesamiento intervienen redes locales y distantes, y se requiere de la cooperación conjunta y jerarquizada de diferentes estructuras del cerebro y en diferentes escalas espaciales.

Desde el punto de vista espacial podemos distinguir redes en tres escalas: micro, meso y gran escala:

Escala local (microescala): Los registros extracelulares electrofisiológicos comunes nos proporcionan trenes de disparo (tiempos de ocurrencia de los potenciales de acción) generados por un grupo de neuronas observadas simultáneamente (desde 1 ó 2 neuronas con electrodos simples hasta varias con electrodos múltiples o arrays). La actividad de disparo multi-unitaria representa la suma ponderada espacialmente de los potenciales de acción de las neuronas en una esfera aproximada de $140\text{-}300\ \mu\text{m}^2$ de área con electrodos de registro con una punta de $1\text{-}10\ \mu\text{m}$ de radio (Henze *et al.*, 2000). La integración ocurre sobre una red local distribuida a través de conexiones monosinápticas con retrasos de conducción de $4\text{-}6\ \text{ms}$ (Girard *et al.*, 2001).

Mesoescala: En la escala temporal de muchos procesos cognitivos (cientos de milisegundos) una neurona, por ejemplo cortical, podría provocar muy pocos disparos lo que no es suficiente para activar una neurona diana a menos que sus disparos coincidan en el tiempo con otros disparos de otras neuronas (Palm, 1990; Tononi *et al.*, 1992; Abeles, 1991; Eckhorn y Stein, 1990). Esto indica que el nivel más relevante de observación de una función de integración es el análisis del comportamiento coordinado de un grupo neuronal local a través de sus interacciones dinámicas. La observación a este nivel requiere el registro de la actividad como densidad de disparos multi-unitaria o como la suma de las corrientes sinápticas, lo que es medido por el potencial extracelular de campo local (LFP). LFP no precisa la contribución individual de una neurona que participa en el proceso, sino la acción común. La señal cruda (sin filtrar) refleja la suma de los potenciales de acción y la actividad sináptica de células contenidas en un área concéntrica a la punta del electrodo ($1\ \text{mm}$) de $350\ \mu\text{m}^2$.

Macroescala: La sincronización a gran escala concierne a redes neuronales compuestas por sistemas separados en el cerebro más de 1 cm, y con retrasos de transmisión de 8-10 ms a través de vías polisinápticas (Girad *et al.*, 2001). Se utilizan registros EEG que miden la actividad sincrónica de una extensa población neuronal cortical de área del orden de 1 cm².

Métodos para determinar el patrón de conectividad funcional

Dominio de tiempo

En la década del los 60 autores como Perkel, Moore, Segundo y Gerstein establecieron las bases del análisis estadístico de los trenes de disparo de neuronas registradas simultáneamente con el objetivo de extraer información concerniente a las posibles relaciones sinápticas o a otras fuentes de interacción entre neuronas. Uno de los primeros métodos desarrollados con dicho objetivo fue la Correlación Cruzada (CC) (Perkel *et al.*, 1967), cuyo histograma cuantifica la probabilidad de ocurrencia de un disparo dada la presencia de otro dentro de un cierto intervalo de tiempo anterior o posterior. En el mismo contexto, un método muy común para captar el acoplo temporal o la asociación funcional entre eventos de estimulación y respuesta neuronal es el histograma de tiempo Periestímulo (PSTH), que caracteriza la correlación cruzada entre los eventos del estímulo y los disparos neuronales (Perkel *et al.*, 1967). Un pico en un histograma CC indica que los trenes de disparos exhiben correlación; la ocurrencia de un disparo en un tiempo concreto no es independiente de la ocurrencia de disparos en otro instante tanto en el tren de disparos de una neurona individual como entre múltiples neuronas.

Una opinión muy extendida es que la presencia de correlaciones es la clave del código neuronal. Sin embargo, la ausencia de un evento podría también considerarse como un bit de información. Dicha “lógica negativa” es menos aceptada entre la comunidad científica, en parte debido a las dificultades experimentales y matemáticas de la investigación en este caso. ¿Cómo medir la ausencia de algo? Una solución posible es el uso de métodos en el dominio de frecuencias, donde alternancia entre silencios y disparos se presenta en forma de oscilaciones que es captada por esos métodos.

Dominio de frecuencia

En el contexto de las propiedades espectrales de la señal electrofisiológica se ha utilizado ampliamente la transformada de Fourier (FT) y basada en ella, la coherencia espectral (SC). La FT nos permite estudiar la densidad espectral local (univariable) de la señal en sus diferentes bandas de frecuencia. La SC es una característica bivariable que determina el grado de sincronía de las oscilaciones de un par de señales. Este método nos permite inferir en la presencia y la fuerza de la asociación funcional entre las correspondientes señales. La coherencia espectral, como medida de la asociación funcional entre dos procesos, tiene como ventaja importante sobre la correlación que es independiente del tamaño del bin, es decir de los detalles técnicos del análisis realizado. lo que aumenta su potencia y robustez frente a otros métodos similares.

Como hemos visto son muchos los estudios que se centran en los cambios en la potencia de las diferentes bandas de frecuencia del EEG. Dando un paso más allá del análisis espectral local, numerosos trabajos han aplicado la coherencia como medida bi-variable de sincronización. Sarnthein *et al.* (1998) encontraron un incremento en la coherencia de los EEG en la banda theta en una tarea de memorización de números. Miltner *et al.* (1999) notificaron un incremento en la banda gamma de la coherencia de los EEGs durante una tarea de aprendizaje asociativo, entre aquellas áreas que procesan las dos clases de estímulos presentados. Weiss *et al.* (1999) encontraron diferencias en la coherencia en las bandas alpha y beta durante el procesamiento de nombres concretos y abstractos a diferentes velocidades. Von Stein y Sarnthein (2000) revisaron varios estudios de la coherencia a partir de EEG y el papel de las diferentes bandas de frecuencia y argumentan la relación entre la escala espacial en la que tiene lugar la integración funcional mediada por sincronía y la banda de frecuencia de las oscilaciones que conlleva, en el rango de theta a gamma.

Con el objetivo de extender las capacidades de SC al tratamiento de tres o más señales registradas simultáneamente se ha propuesto un método estadístico basado en la parcialización lineal (probabilidad condicional) (Brillinger *et al.*, 1976; Dahlhaus *et al.*, 1997; Rosenberg *et al.*, 1989), la coherencia espectral parcial (PSC). Este método es capaz de distinguir entre

conexión directa e indirecta (vía otra/s neuronas o sistemas neuronales). Sin embargo, los métodos presentados hasta ahora (SC y PSC) no son capaces de identificar relaciones mutuas entre neuronas debido a sus limitaciones para hallar la dirección de la sinapsis. Parra arrojar luz en este sentido se aplica un concepto ampliamente usado en la descripción matemática de los datos en el campo de la economía, la causalidad de Granger (Granger, 1969):

“Una serie temporal es causante-Granger de otra serie si el conocimiento del pasado de la primera mejora significativamente la predicción de la segunda”.

Esta relación no es recíproca lo que dota de direccionalidad los métodos basados en este concepto. Se han desarrollado principalmente tres métodos: Coherencia Parcial Dirigida (PDC) (Sameshima *et al.*, 1999), Función de Transferencia Dirigida (DTF) (Kaminski & Blinowska, 1991) y Función de Transferencia Dirigida directa (dDTF) (Korzeniewska *et al.*, 2003). Dichos métodos son capaces de determinar la dirección del flujo de información incluso en el caso de acoplamiento mutuo entre neuronas pero no podemos determinar el tipo de conexión.

Destacamos ya que los métodos en el dominio de frecuencia no han tenido gran aceptación a nivel neuronal y son escasos los estudios de aplicación a trenes de disparos reales debido a que: i) no son capaces de resolver el acoplo mutuo entre neuronas y/o no distinguen el tipo de acoplo (excitador o inhibidor); ii) se supone que los trenes de disparo son suficientemente largos y sus propiedades estadísticas son constantes (trenes estacionarios), una condición difícil de satisfacer en los experimentos; iii) suelen errar cuando se aplican a trenes excesivamente rítmicos, una situación más que común y que representa por sí misma una materia de estudio; iv) la estimación del espectro de potencias de un tren de disparos es muy difícil y poco fiable. La transformada de Fourier estima el espectro de potencias del proceso proporcionando una medida del contenido espectral de la señal. Sin embargo, se conoce que tal transformación tiene algunas dificultades al tratar con procesos puntuales o trenes de disparos (Brillinger, 1978). Como veremos en los resultados de este trabajo (sección 6.4) esta limitación impide el uso de dichos métodos. Para solventar algunas de esas limitaciones se ha abogado por el uso de la transformada de Fourier multi-taper (Jarvis y Mitra, 2001). Aunque dicha transformada en general proporciona mejores resultados, en el

caso de trenes de disparo altamente rítmicos (por ejemplo, en condiciones experimentales de estimulación sensorial periódica) la técnica falla al representar la densidad espectral de la señal. Sin embargo su aplicación a series temporales continuas, sobre todo EEG, es extensa y bien aceptada. La diferencia de aceptación de los métodos en trenes de disparos o EEG puede deberse a los problemas anteriormente mencionados que supone la estimación del espectro de potencias para un proceso puntual.

Dominio de tiempo-frecuencia

Las medidas que acabamos de mencionar pueden ser muy útiles en diferentes aspectos de la Neurociencia, sin embargo se basan en una hipótesis fundamental que difícilmente cumplen las señales en cuestión: la actividad neuronal no es estacionaria, por tanto dichos métodos no permiten inferir sobre los cambios temporales en la asociación entre las señales. De hecho, cualquier análisis basado enteramente en el promedio temporal (PSTH, CC) o en la transformada de Fourier (Coherencia espectral) ignora las variaciones temporales en el acoplamiento funcional entre las señales. Es esencial por tanto una resolución temporal adicional que reemplace la coherencia clásica basada en la transformada de Fourier.

Para solventar esta carencia de balance entre teoría y experimento se requiere del uso de conceptos y métodos de un campo en continuo y rápido crecimiento como es la teoría de sistemas complejos y dinámica no lineal, y requiere del desarrollo y mejora de las herramientas que puedan ayudarnos a interpretar la información que conllevan las complejas series temporales biológicas. En este camino ha habido exitosos intentos de adaptar los métodos basados en la transformada de Fourier a señales temporales cortas, por ejemplo mediante ventanas deslizantes ortonormales (Bayram and Baraniuk 1996; Lovett and Ropella 1997; Xu *et al.*, 1999), muy similar a la clásica transformada de Gabor (Mallat, 1999).

Hace relativamente poco tiempo se ha propuesto la transformada de wavelet como método de análisis de series temporales que puede adaptarse a señales complejas no estacionarias, siendo éste el propósito con el que fue diseñado. La técnica de transformación wavelet proporciona una alta resolución temporal con una buena resolución de frecuencia ofreciendo un compromiso

razonable para estos parámetros. La transformada wavelet se ha utilizado para analizar señales cerebrales con muy diferentes propósitos y ha tenido una amplia aceptación. La mayoría de las aplicaciones han sido en registros electroencefalográficos (por ejemplo, Schiff *et al.*, 1994; Goelz *et al.*, 2000; Alegre *et al.*, 2003; Quiroga and Garcia 2003; Mäkinen *et al.*, 2004; Mormann *et al.*, 2005; Murata 2005; Castellanos and Makarov 2006, Herrojo *et al.*, 2008, 2008b). Sin embargo, hay muy pocos estudios sobre la sincronización entre pares de trenes de disparos. En esta dirección se ha utilizado el espectro cruzado wavelet para analizar las oscilaciones en fase entre trenes de disparos registrados simultáneamente en el área motora del mono rhesus entrenado para producir una serie de movimientos de la mano guiados visualmente de acuerdo a los cambios en la localización del objetivo (Lee 2002, 2003). Los primeros estudios de la coherencia wavelet son muy recientes (Le Van Quyen *et al.*, 2001; Lachaux *et al.*, 2002; Grinvald *et al.*, 2004; Klein *et al.*, 2006). La coherencia wavelet, igual que la coherencia espectral, permite obtener el acoplamiento funcional entre dos señales neuronales pero además proporciona la estructura temporal del acoplo. Li *et al.* (2007) investigaron la interacción temporal en las regiones CA1 y CA3 en ratas con epilepsia inducida usando la transformada wavelet. En los trabajos de Pavlov *et al.* (2006, 2007) se aboga e ilustra el uso de la transformada wavelet para el análisis de trenes de disparos neuronales registrados en el núcleo trigémino bajo estimulación táctil de la vibración.

El estudio de conectividad funcional puede abarcarse desde dos enfoques que según se demostrará en este trabajo están relacionados: el matemático y el biológico. Por un lado debemos interpretar el patrón de conectividad funcional en el contexto de cada uno de los métodos matemáticos que se han desarrollado para determinarlo, y que acabamos de exponer, y por otro dicha interpretación de la conectividad debe estar sujeta a los procesos neuronales que registramos con las diferentes técnicas experimentales y que se refieren a distintos niveles de escala espacial.

Los múltiples tipos de datos que pueden usarse para evaluar la conectividad funcional difieren unos de otros en numerosas características,

incluyendo la resolución espacial y temporal, o si los datos representan la actividad individual de una neurona, de una población neuronal o la actividad (eléctrica o hemodinámica) de una región cerebral macroscópica (Horwitz, 2003). Más aún, se pueden emplear diferentes métodos matemáticos para estimar la interacción entre señales, incluso para un mismo tipo de datos. En este punto surge la discusión acerca de la naturaleza elusiva de los conceptos de conectividad funcional y efectiva, principalmente por dos motivos. Primero, las diferentes técnicas tanto de registro (experimentales) como aquellas por las que se puede determinar la conectividad funcional (métodos matemáticos) no siempre llevan a las mismas conclusiones acerca de si una o varias poblaciones o unidades neuronales interactúan. Segundo, existen dificultades relativas a la forma en que se calcula la conectividad efectiva ya que ésta depende tanto de la conectividad funcional como del modelo hipótesis. Dependiendo de qué aspectos de los datos considere el investigador importantes podría haber varios modelos para un mismo conjunto de datos. Por ejemplo, si un estudio conlleva un diseño experimental complejo consistente de múltiples condiciones, la conectividad efectiva dependerá de qué tareas sean o no incluidas en el modelo y de cómo se tenga en cuenta el diseño experimental (Mechelli *et al.*, 2002). Por tanto la comparación de la conectividad ya sea funcional o efectiva entre diferentes estudios debe tomarse con precaución y ser definida previamente. Hasta la fecha son pocos los estudios que relacionan las medidas de registro y los procesos biofísicos responsables. Por ejemplo, ¿cómo se correlaciona la coherencia de los EEG con la conectividad funcional de las series temporales de fMRI? Según menciona Lee *et al.* (2003), un acercamiento podría ser el uso de modelos neuronales a larga escala, biológicamente realistas y que incluyan diferentes escalas espaciales y temporales. La conectividad funcional y efectiva son conceptos que no pueden tratarse de forma aislada o universal sino en su contexto.

En simulaciones numéricas puede observarse que en distintos tipos de estructuras anatómicas surgen diferentes patrones de conectividad funcional. De esta básica observación surge la pregunta de si las diferentes regiones anatómicas están asociadas consistentemente con un tipo particular de conectividad funcional. Es decir, ¿puede llevarse a cabo el procesamiento de la información de un cierto nivel de complejidad de varias formas cualitativamente

diferentes y que no estén estructuralmente relacionadas, o hay categorías únicas de conectividad o áreas anatómicamente distinguidas que favorecen la emergencia de dicha complejidad? Teniendo presente esta cuestión y atendiendo a la crítica realizada por Horwitz (2003) surge la necesidad de estudiar la conectividad funcional en las diferentes escalas espaciales del cerebro (micro con trenes de disparos, meso con LFPs y macro con EEG), y en regiones cerebrales de diferente complejidad, e interpretar los resultados en su contexto biológico haciéndose eco a la vez de las restricciones que impone haber elegido un determinado método matemático para determinar la conectividad funcional. En este trabajo hacemos frente a dichas críticas desde el planteamiento de tres cuestiones: i) Los mecanismos de integración funcional, mediados por la sincronización, ¿son los mismos en las diferentes escalas espaciales del cerebro y en estructuras de diferente complejidad?, ii) ¿pueden emplearse los mismos procedimientos matemáticos para señales neuronales de naturaleza distinta? y, iii) ¿todos los métodos matemáticos desarrollados para determinar la conectividad funcional capturan de forma efectiva los procesos asociativos en las distintas señales? Para responder a esta pregunta es necesario un profundo estudio comparativo tanto a nivel matemático como biológico.

Para ello el primer paso debe ser la evaluación de los métodos matemáticos más comunes en su aplicación a los dos tipos de series temporales que podemos encontrar en electrofisiología: los procesos puntuales como los trenes de disparo y, las series temporales continuas, los LFP y EEG (sección 6.1 del presente trabajo). Los métodos matemáticos para inferir en la asociación funcional entre señales pueden desarrollarse como ya hemos clasificado en tres dominios: tiempo (basada en correlaciones), frecuencia, (basados en la transformada de Fourier) y el dominio más novedoso tiempo-frecuencia simultáneamente (basados en la transformada wavelet). Son pocos los estudios comparativos (Castellanos *et al.*, 2004; Castellanos *et al.*, 2005) que recogen las limitaciones de los métodos que hemos expuesto en la sección anterior. Las técnicas en el dominio de tiempo, como la correlación cruzada, aunque ampliamente usadas ofrecen una información bastante limitada del proceso de acoplamiento y puede llevar a conclusiones falsas o ambiguas. Los métodos espectrales solventan algunas de sus desventajas y ofrecen una

representación de la señal en sus componentes espectrales lo que abre otros campos de investigación. Estos métodos tienen como punto de partida la estimación del espectro de potencias mediante la transformada de Fourier y es en este punto donde surge la principal causa de que dichas herramientas matemáticas no hayan sido extensamente aplicadas a trenes de disparos reales, lo que cierra el camino hacia la determinación de la asociación entre neuronas a partir de sus trenes de disparos (Castellanos *et al.*, 2007).

Al contrario que con los trenes de disparo, los métodos en el dominio de frecuencias anteriormente citados han sido aplicados con éxito a series continuas. Apoyándonos en esta base matemática la identificación y clasificación de los circuitos son una herramienta que nos permite abarcar entre otros el problema de clasificación de estados cerebrales. Por otra parte, el patrón de conectividad funcional cortico-cortical obtenido a partir de los registros de EEGs que se realizan de forma no invasiva nos permite centrarnos en la posibilidad de distinguir entre los estados cerebrales de personas con daño cerebral (Castellanos *et al.*, 2005; Castellanos *et al.*, 2006, Castellanos *et al.*, 2006b; Castellanos *et al.*, 2006c). Para ello es necesario implementar un análisis capaz de agrupar y extraer las características que definen y discriminan cada estado (sección 6.2 del presente trabajo). En este tipo de datos es de primordial importancia el pre-procesamiento de la señal ya que los EEG están inevitablemente contaminados por artefactos debidos entre otras fuentes al parpadeo o movimientos de los sujetos. Las consecuencias que puedan derivarse de una incorrecta eliminación de los artefactos podrían alterar drásticamente el análisis posterior y conducir a conclusiones erróneas. En la literatura se ha destacado con frecuencia la corrosión que sufre la señal al aplicar los métodos más convencionales, sin embargo no se ha cuantificado el daño que podría causar sobre las propiedades espectrales y de conectividad en los EEG. Ante un deficiente rendimiento de una de las técnicas más empleadas, basada en el análisis de componentes independientes, nos proponemos establecer un método que subsane los errores del anterior y proporcione una señal fiable para el análisis de conectividad (Castellanos y Makarov, 2006). Por otra parte, a partir de los registros LFP registrados en la corteza visual podemos determinar el circuito funcional local que subyace al procesamiento de estímulos visuales de diferentes características, y dando un

paso más en la escala espacial estudiar el papel de la interacción inter-hemisférica en dicho procesamiento (sección 6.3 del presente trabajo) (Makarov *et al.*, 2007).

Anteriormente se ha destacado que las técnicas espectrales están basadas en la suposición de que las señales son estacionarias, condición que difícilmente cumplen las señales neuronales y que en general será violada drásticamente durante la estimulación. Por ello, nos proponemos desarrollar una herramienta que no sólo cubra las expectativas puestas sobre los métodos previamente publicados y solvante sus limitaciones, sino que amplíe las posibilidades de estudio de las anteriores técnicas tratando las conexiones desde su naturaleza dinámica. Ante estas expectativas se adecuan satisfactoriamente las posibilidades que ofrece la transformada wavelet como núcleo de un método matemático destinado al análisis y cuantificación de la asociación entre señales en el dominio tiempo-frecuencia, la coherencia wavelet.

Junto a todo ello la metodología propuesta nos permitirá ser capaces de estimar correctamente el espectro de potencias de un tren de disparos, lo que reabriría el camino hacia la inferencia de circuitos neuronales. La coherencia wavelet puede aplicarse a la investigación de las propiedades dinámicas de los trenes de disparo y proporciona una herramienta útil para evaluar los cambios dinámicos de la respuesta neuronal. Por ello y como aplicación experimental de nuestros métodos, pretendemos cuantificar la coherencia wavelet, es decir la asociación funcional tempo-espectral, entre la respuesta de las neuronas del núcleo gracil (Castellanos *et al.*, 2007) y trigémino (Malmierca *et al.*, 2007) ante la estimulación táctil y estudiar el papel modulador de la corteza somatosensorial primaria.

Conectividad funcional

Datos electrofisiológicos

Trenes de disparos

Series temporales discretas

LFP

Series temporales continuas

EEG

Métodos matemáticos

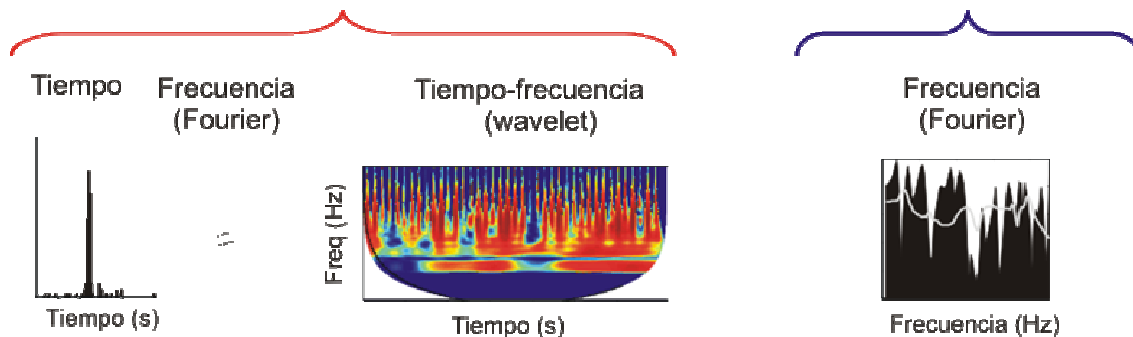


Figura 5: Esquema del trabajo. Los datos electrofisiológicos pueden dividirse en dos grandes grupos, según su tratamiento matemático: Las series temporales discretas, como son los trenes de disparos, o las series temporales continuas como son los potenciales de campo local (LFP) o los registros electroencefalográficos (EEG). En este trabajo vamos a estudiar, evaluar y proponer métodos matemáticos para determinar la asociación funcional entre señales neurológicas teniendo en cuenta dicha división de los datos. Respecto a los trenes de disparo, la conectividad funcional se ha abarcado principalmente desde el dominio de tiempo, a través del histograma de correlación cruzada (se muestra un ejemplo en el panel inferior de la izquierda). En el dominio de frecuencia se ha propuesto el uso de diferentes métodos, que proporcionan la asociación funcional entre neuronas en función de la banda espectral. Sin embargo nuestro estudio nos lleva a descartar dichos métodos como herramienta para determinar los circuitos neuronales (Panel inferior, segundo por la izquierda). En este trabajo vamos a proponer el uso del dominio de tiempo y frecuencia simultáneo para desarrollar una función de asociación tempo-espectral. La representación 3D nos muestra el grado de acoplamiento entre trenes de disparos (codificado con el color), en función del tiempo (eje x) y frecuencia (eje y) (se muestra un ejemplo en el panel inferior, tercero por la izquierda). Respecto a las series temporales continuas recurrimos a los métodos espectrales para determinar la conectividad funcional entre sistemas (se muestra un ejemplo en el panel inferior a la derecha).

OBJETIVOS

2. Objetivos

El presente trabajo tiene como fin evaluar y proponer métodos matemáticos para determinar la asociación funcional entre series temporales de origen neurofisiológico. A partir del patrón de conectividad funcional pretendemos inferir en la conexión efectiva de diferentes sistemas sensoriales. Este fin se lleva a cabo a través de los siguientes objetivos.

1. Dividir las series temporales neurológicas en dos grupos diferenciados por su tratamiento matemático: i) series temporales discretas, como son los trenes de disparos, y ii) series temporales continuas, como los registros electroencefalográfico (EEG) y los potenciales de campo locales (LFP).
2. Estudiar e implementar de los métodos matemáticos para determinar la conectividad funcional. Clasificamos los métodos según el dominio en el que se ha desarrollado: i) tiempo, donde se ha considerado el histograma de Correlación Cruzada (CC), ii) frecuencia, donde se ha considerado la Coherencia Espectral (SC), Coherencia Espectral Parcial (PSC), Coherencia Dirigida Parcial (PDC), Función de Transferencia Dirigida (DTF) y la Función de Transferencia Dirigida directa (dDTF), y iii) tiempo-frecuencia, donde consideraremos la Coherencia Wavelet.
3. Evaluar la capacidad de los métodos mencionados en el punto anterior para determinar la asociación funcional a partir de trenes de disparos.
4. Probada en la literatura la eficacia de los métodos mencionados en el punto 2 para determinar el acoplamiento funcional a partir EEGs, el presente objetivo es determinar los circuitos cortico-corticales y establecer una comparación entre los circuitos en personas con daño cerebral y sujetos control. Para ello se seguirán los siguientes pasos cuyos objetivos concretos son :

- a. Proponer un método de eliminación de los artefactos que no distorsione las propiedades espectrales y de conectividad de las señales de EEGs.
 - b. Determinar los circuitos cortico-corticales, o circuitos a gran escala, a partir de registros EEGs en humanos.
 - c. Establecer un criterio de comparación de los circuitos a gran escala que no permita reducir la dimensión de la medida y clasificar las poblaciones bajo estudio, comprobando así si los circuitos a gran escala son una medida discriminante de los estados de daño cerebral.
5. Abarcar la interacción a larga escala desde el enfoque matemático de comparación y clasificación de señales. Estudiar la influencia de la interacción interhemisférica a nivel local, a través de LFP registrados en la corteza visual en diferentes condiciones experimentales y caracterizar dicha influencia según la naturaleza del estímulo estático o dinámico.
6. Proponer el uso de un nuevo método matemático para determinar la asociación funcional en el tiempo y frecuencia simultáneamente a partir de trenes de disparos. Aprovechar la naturaleza dinámica que ofrece dicho dominio tempo-espectral para caracterizar el papel modulador de la vía corticofugal en las respuestas de las neuronas del núcleo gracil y trigémino.

DATOS EXPERIMENTALES

3. Datos experimentales

Los registros experimentales utilizados en esta tesis provienen de la colaboración científica con diferentes grupos experimentales tanto nacionales como internacionales. En este capítulo resumimos brevemente el procedimiento experimental para completar el trabajo.

3.1 Trenes de disparo

Los experimentos han sido realizados por el equipo de Ángel Nuñez, profesor del departamento de Anatomía, Histología y Neurociencia de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid.

Preparación de los animales

Los datos fueron obtenidos de un total de 91 ratas Wistar de Iffa-Credo (Francia), criadas en el animalario de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid. Las ratas fueron de ambos sexos y sus pesos estuvieron comprendidos entre 200 y 230 g. Todos los animales fueron anestesiados con una inyección intraperitoneal de uretano a una dosis de 1,6 g/Kg.

Tras la anestesia los animales se colocaron en un aparato estereotáxico, y se les ventiló artificialmente durante todo el experimento mediante una bomba de Harvard Instruments a 22 ciclos por minuto. También se monitorizó el porcentaje de dióxido de carbono (CO₂) en el aire espirado, manteniéndose entre 2-4%. Para completar la anestesia general, se inyectó en todos los puntos de incisión un anestésico local (lidocaína al 1%). Para monitorizar el nivel de anestesia se observó el reflejo pupilar y se registró el electroencefalograma (EEG) mediante la inserción de un macroelectrodo colocado en la corteza cerebral del lóbulo frontal. El electrodo de referencia se colocó en la musculatura del animal. El EEG ha sido observado de forma continua en un osciloscopio analógico. El nivel de anestesia se estimó por la amplitud de las ondas lentas del EEG y se administraron dosis suplementarias de anestésico para mantener al animal arrefléxico o cuando la amplitud de las ondas lentas del EEG decrecía. La temperatura del animal se mantuvo a 37°C con ayuda de una manta térmica.

Todos los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo con la normativa de la Unión Europea (European Communities Council Directive, 86/609/EEC) y se trató de minimizar el sufrimiento y el número de animales de experimentación en lo posible.

3.1.1. Núcleo gracil

Cirugía

Para el registro en el núcleo gracil se realizó una incisión en la piel a nivel de la línea media desde el occipucio hasta los segmentos cervicales inferiores. Tras desinsertar la musculatura de la nuca sobre el occipucio y sobre la membrana occipito-atloidea, se extirpó dicha membrana junto con la duramadre y la leptomeninge adherida a la misma para dejar abierta la cisterna magna y el tronco del encéfalo al descubierto. Los NCD se localizaron por visualización directa bajo el microscopio de disección, utilizando como referencia el obex. Se añadió aceite mineral para evitar la desecación de las estructuras nerviosas.

Las referencias estereotáxicas fueron las siguientes: Antero-Posterior, -13,6 a -14,6 mm; lateral 0,2 a 1,0 mm, utilizando el bregma como referencia; H, 0,0 a 0,5 mm desde la superficie del tronco del encéfalo (Atlas de Paxinos y Watson, 1986).

El resto de estructuras registradas o estimuladas fueron localizadas por métodos estereotáxicos según las coordenadas del atlas de Paxinos y Watson (1986). Para el registro y estimulación de la corteza somestésica primaria (SI) se realizó una craniotomía desde el bregma hasta 4 mm posterior a este punto y desde 2 a 6 mm lateralmente. Se retiró la duramadre y se cubrió la corteza cerebral con aceite mineral.

Registros electrofisiológicos

Para los registros de la actividad unitaria se utilizaron micropipetas de vidrio o microelectrodos de tungsteno (World Precision Instruments, Reino Unido). Las micropipetas se realizaron en un estirador de pipetas (Narishigui, Japón) y se rellenaron con NaCl 3M para conectarse a través de un hilo de plata a un preamplificador. La punta de la pipeta fue seccionada hasta un diámetro de 2 a 6 μm , con lo que se conseguían que la impedancia del electrodo fuera de 2-5 M Ω . Los microelectrodos de tungsteno tenían también una impedancia de 2-5

MΩ. Los registros de actividad neuronal unitaria fueron filtrados (0,3-3 kHz) y amplificados mediante un preamplificador de corriente alterna P15 (Grass, West Warwick, USA). La señal continua fue digitalizada y almacenada en un ordenador mediante un sistema de adquisición 1401 Plus completado por el programa Spike 2 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, Reino Unido). La frecuencia de muestreo fue 10 KHz para el registro neuronal y de 1 KHz para los pulsos de sincronismo (estímulos antidrómicos o de los campos receptivos). La forma y amplitud de las espigas fueron monitorizadas continuamente en un osciloscopio analógico. Durante el análisis posterior en el ordenador se realizaron nuevos controles de amplitud y forma de las espigas, para asegurar que se registraba la misma célula durante todo el experimento.

Estimulación somestésica

Cuando se conseguía aislar en el registro disparos de una neurona, su campo receptivo (CR) sensorial era delimitado minuciosamente con un pincel para determinar su extensión. Los CRs se perfilaban según los límites en los que el estímulo inducía cambios en la actividad basal de la neurona. El centro funcional del CR quedaba definido por la superficie cutánea cuyo estímulo provocaba la respuesta más intensa. La estimulación cutánea se realizó de forma precisa bien mediante un chorro de aire controlado por una válvula electrónica (1-2 kg/cm²; Picospritzer, General Valve), lanzado a través de un tubo de polietileno con un diámetro interior de 1 mm, o bien mediante una sonda de metal (0.5 mm de diámetro) movida por un solenoide que era alimentado por pulsos de voltage de 2-4 V generados con un estimulador S88 (Grass) que permitía controlar la duración e intensidad de la indentación que producía en la piel el tubo de polietileno. La duración de los estímulos variaba según los experimentos en el rango 10-100 ms.

Estimulación cortical

Para estimular la corteza somatosensorial primaria (SI) se utilizaron electrodos bipolares (120 μm de diámetro de acero inoxidable, World Precision Instruments) que estaban aislados excepto en las puntas. Antes de colocar el electrodo de estimulación se delimitaba el CR del área cortical donde iba a ser introducido para poder estimular áreas corticales con el mismo o con diferente

CR que la neurona registrada en el núcleo gracil. Para ello se introducía un microelectrodo de tungsteno para registro multiunitario (1-2 M Ω) en las coordenadas estereotáxicas correspondientes a la corteza SI (A: +1 a -3; L: 2 a 5; H 1.2 mm) y se buscaba un área cutánea de la extremidad inferior que provocara una respuesta multiunitaria vigorosa. Tras perfilar el CR, se colocaba el electrodo de estimulación en la corteza SI (a una profundidad de 1,2 mm) contralateral a la neurona registrada en el gracil.

Se aplicaron pulsos individuales de 0.3 ms de duración, 10-100 μ A de intensidad separados uno del otro 2s. También se aplicaron trenes de pulsos cortos de duración a 50 ó 100 Hz de frecuencia, durante 500 ms. Estos estímulos fueron aplicados mediante un estimulador Grass S88 frecuencias conocidas y a través de una unidad de aislamiento (Stimulus Isolation Unit, Grass SIU5) para disminuir el artefacto de la estimulación en el registro neuronal.

3.1.2. Núcleo trigeminal

Los datos fueron obtenidos de un total de 10 ratas Wistar de Iffa-Credo (Francia), criadas en el animalario de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid. Las ratas fueron de ambos sexos y sus pesos estuvieron comprendidos entre 200 y 230 g. Todos los animales fueron anestesiados con una inyección intraperitoneal de uretano a una dosis de 1,6 g/Kg.

Tras la anestesia se colocaron en un aparato estereotáxico, y se les ventiló artificialmente durante todo el experimento mediante una bomba de Harvard Instruments a 22 ciclos por minuto. También se monitorizó el porcentaje de dióxido de carbono (CO₂) en el aire espirado, manteniéndose entre 2-4%. Para completar la anestesia general, se inyectó en todos los puntos de incisión un anestésico local (lidocaína al 1%). Para monitorizar el nivel de anestesia se observó el reflejo pupilar y se registró el electroencefalograma (EEG) mediante la inserción de un macroelectrodo (de acero inoxidable aislado 120 μ m de diámetro, cortado de forma roma y en donde desaparecía el aislante). Este electrodo fue colocado en la corteza cerebral del lóbulo frontal y se colocó un electrodo de referencia en la musculatura del animal. El EEG se registró de forma continua en un osciloscopio analógico. El nivel de anestesia se estimó por la amplitud de las

ondas lentas del EEG y se administraron dosis suplementarias de anestésico para mantener al animal arrefléxico o cuando la amplitud de las ondas lentas del EEG decrecía. La temperatura del animal se mantuvo a 37°C con ayuda de una manta térmica.

Todos los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo con la normativa de la Unión Europea (European Communities Council Directive, 86/609/EEC) y se trató de minimizar el sufrimiento y el número de animales de experimentación en lo posible.

Preparaciones quirúrgicas

Para el registro en los núcleos de la columna dorsal (NCD) o en el núcleo espinal caudal del trigémino (Sp5C) se realizó una incisión en la piel a nivel de la línea media desde el occipucio hasta los segmentos cervicales inferiores. Tras desinsertar la musculatura nuchal sobre el occipucio y sobre la membrana occipito-atloidea, se extirpó dicha membrana junto con la duramadre y la leptomeninge adherida a la misma para dejar abierta la cisterna magna y el tronco del encéfalo al descubierto. Los núcleos se localizaron por visualización directa bajo el microscopio de disección, utilizando como referencia el obex. Se añadió aceite mineral para evitar la desecación de las estructuras nerviosas.

Aunque los núcleos fueron identificados visualmente, las referencias estereotáficas donde están situados fueron las siguientes:

Núcleo gracil: antero-Posterior, -13,6 a -14,6 mm; lateral 0,2 a 1,0 mm, utilizando el bregma como referencia; H, 0,0 a 0,5 mm desde la superficie del tronco del encéfalo. Núcleo Sp5C: AP: -14.3 mm, L: 3 mm from the bregma; H: 0.5 a 2 mm desde la superficie (Atlas de Paxinos y Watson, 1986).

Para el registro y estimulación de la corteza somestésica primaria (SI) se realizó una craniotomía desde el bregma hasta 4 mm posterior a este punto y desde 2 a 6 mm lateralmente. Se retiró la duramadre y se cubrió la corteza cerebral con aceite mineral.

Estimulación somestésica

Para el estudio de interferencia de las respuestas somestésicas en el Sp5C se realizaron series de estímulos con la sonda antes mencionada en tres situaciones distintas:

- a) Control: secuencia de 30 estímulos de 20 ms de duración a una frecuencia de 1 Hz sobre el centro funcional del CR.
- b) Interferencia sensorial ipsilateral: se realiza la misma secuencia que en control pero se realiza sincrónicamente una estimulación táctil con un pincel sobre CRs adyacentes.
- c) Interferencia sensorial contralateral: igual que en (b) pero el estímulo distractor se aplicó sobre el territorio de inervación cutánea trigeminal contralateral.

Estimulación cortical

Para estimular la corteza SI se utilizaron electrodos bipolares (120 μ m de diámetro de acero inoxidable, World Precision Instruments) que estaban aislados excepto en las puntas. Se aplicaron trenes de estímulos de 0,3 ms a 50 Hz de frecuencia, durante 500 ms de duración. Estos estímulos fueron aplicados mediante un estimulador Grass S88 que permite aplicar pulsos de corriente de intensidad, duración y frecuencias conocidas y a través de una unidad de aislamiento (Stimulus Isolation Unit, Grass SIU5) para disminuir el artefacto de la estimulación en el registro neuronal. Antes de colocar el electrodo de estimulación se delimitaba el CR del área cortical donde iba a ser introducido para poder estimular áreas corticales con el mismo o con diferente CR que la neurona registrada en los NCD. Para ello se introducía un microelectrodo de tungsteno para registro multiunitario (1-2 M Ω) en las coordenadas estereotáxicas correspondientes a la corteza SI (A: 1 a -3; L: 2 a 5; H 1.2 mm) y se buscaba un área cutánea de la extremidad inferior que provocara una respuesta multiunitaria vigorosa. Tras perfilar el CR, se colocaba el electrodo de estimulación en la corteza SI (a una profundidad de 1,2 mm) contralateral a la neurona registrada en los NCD.

Análisis de los datos

Los registros unitarios aceptados para el análisis fueron aquellos cuya amplitud de la espiga varió menos del 10% durante todo el experimento y su relación con el ruido del registro fue de al menos dos veces mayor que éste.

Los registros electrofisiológicos fueron adquiridos en un ordenador PC para su análisis estadístico. El término “adquisición” designa una serie de pasos por los cuales las señales son digitalizadas, es decir, el valor de voltaje de la señal en

un momento dado es almacenado en el ordenador como un valor numérico, repitiéndose esta operación a una frecuencia fija que denominamos “frecuencia de muestreo”. Cuanta más alta es la frecuencia de muestreo mayor es la exactitud de la señal reproducida dentro del ordenador ya que el intervalo entre las muestras es menor. Para la elección de la frecuencia de muestreo hay que tener en cuenta el criterio de Nyquist, que establece que la frecuencia de muestreo debe ser al menos el doble de la frecuencia más alta contenida en la señal. En este estudio se eligió como frecuencia de muestreo 10 KHz para los registros unitarios. También se almacenaron en el ordenador junto con las señales de la actividad neuronal, las señales de sincronismo correspondientes a la ocurrencia de los estímulos táctiles o a los estímulos eléctricos en la corteza SI. Estas últimas señales se utilizaron como referencias temporales en los histogramas periestímulo.

Los registros de la actividad neuronal se transformaron en procesos discretos sustituyendo las espigas por elementos puntuales tomando como referencia el momento de la generación de la espiga. Esta variable se almacenó en el ordenador como señales cuyo valor sólo pudo ser 1 o 0 según si hubiera acontecido el suceso o no, respectivamente. La obtención de este proceso puntual se hizo mediante el uso de un umbral de voltaje que discriminó la ocurrencia de un potencial de acción en la neurona estudiada y lo convirtió en un proceso puntual.

3.2 Potenciales de campo local (Local Field Potential, LFP)

Los experimentos fueron realizados en el Departamento de Neurociencia del Instituto Karolinska (Estocolmo, Suecia) bajo la supervisión del profesor Giorgio Innocenti.

Preparación de animales y electrofisiología

Los experimentos han sido realizados en hurones mantenidos bajo anestesia de acuerdo con los protocolos que establece la Comunidad Económica Europea y Suecia sobre el cuidado y uso de animales en experimentos científicos aprobado por el comité ético de Estocolmo. Se mantuvo la anestesia por ventilación artificial con una mezcla de N₂O (65%), O₂ (35%) e isoflurano (0.8-1.2%) suplementado con aplicaciones intravenosas al músculo

(pancuronium, 0.25 mg/kg/h) para prevenir los movimientos de los ojos. Las pupilas se dilataron con atropina y neosynephrina y fijadas con lentes de contacto. Se realizó una craniotomía sobre el polo occipital de cada hemisferio.

Se registraron los LFP en el hemisferio derecho empleando una matriz 3 x 5 de 15 microelectrodos de tungsteno espaciados 410 μm entre sí (FHC, Bowdoinham, ME, USA) y situados en el borde entre las áreas 17 y 18. La posición de los microelectrodos se controló histológicamente después del experimento y se encontró que se registraba en la capa supragranular. Los campos receptivos se perfilaron manualmente, confirmándose en la mayoría de los casos por el mapeo computerizado de las respuestas al estímulo S1 (Fig. 6). Esto supone que los electrodos registraban la actividad dentro de 20 deg desde la línea media del campo visual, es decir, en partes donde las representaciones del campo visual están conectados por axones del cuerpo calloso (Innocenti et al., 2002). Se centró un cryoloop de 7 mm de largo y 2 mm de ancho en el borde 17/18 del hemisferio izquierdo. Como condición basal se realizó una estimulación de un ciclo de 30 repeticiones. Después el cryoloop se congeló hasta $2^{\circ}\text{C} \pm 1.5^{\circ}\text{C}$, para desactivar todas las capas corticales bajo la sonda (Lomber et al., 1999). Después de esperar 5 minutos para que se estabilice la temperatura se realiza otro ciclo de estimulación seguido de 30 minutos de recuperación hasta la temperatura basal, después de la cual se realiza otro ciclo de estimulación. Los LFP se amplificaron con un amplificador convencional y se digitalizaron a 1 KHz (Plexon Inc, Dallas, USA). Posteriormente se aplicó un filtro notch a 50 Hz y suavizado ponderado localmente con un ajuste polinómico lineal de mínimos cuadrados para suprimir el ruido a frecuencias altas ($> 120 \text{ Hz}$) y bajas ($< 4 \text{ Hz}$).

Estimulación visual

Durante el experimento se presentaron tres clases de estímulo: S1, S2 y S3 (Figura 6).

Estimulación S1: En la pantalla se proyecta un cuadrado de luz brillante de 2.5 grados durante 50 ms con una posición al azar en una cuadrilla de 10 x 10 elementos, cubriendo 25 deg en la posición central del campo visual. El estímulo se repetía cada 0.5s hasta completar todas las 100 posibles

posiciones. Se repite la secuencia de estimulación 10 veces con un intervalo de 2 s.

Estimulación S2: Consistente en barras sólidas de blanco y negro orientadas en 4 direcciones diferentes con un paso de 45° en sentido horario e idénticas en los dos hemisferios. La imagen permanece estacionaria durante 0.5 s después se mueven en las direcciones perpendiculares a sus orientaciones marcadas por flechas durante 3 s seguidas de 3 s de exposición al monitor en gris equiluminiscente. Las barras tienen una frecuencia espacial de 0.1 ciclos/deg y se mueven a 14 deg/s.

Estimulación S3: El mismo protocolo que S2 pero la orientación y/o dirección del movimiento es diferente para cada hemisferio.

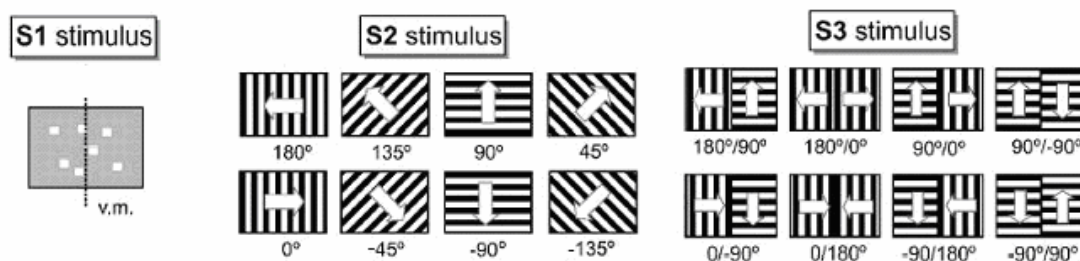


Figura 6: Protocolos de estimulación visual.

3.3 Electroencefalogramas (EEG)

Los registros electroencefalográficos han sido adquiridos en el Centro de Rehabilitación de Daño Cerebral (C.R.E.C.E.R) en Sevilla bajo la dirección del profesor José León-Carrión de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla.

Registros electroencefalográficos

Se han realizado registros electroencefalográficos a un total de 16 pacientes con daño cerebral (11 hombres y 5 mujeres) de edades comprendidas entre 4 y 69 años con una media de 32. De los 16 pacientes, 10 habían sufrido un traumatismo craneoencefálico, 5 habían sufrido accidentes cerebrovasculares (ACVs) y uno de ellos un tumor mesencefálico. La media de la puntuación en la escala de Glasgow de 12 de los 16 pacientes (no disponemos de los datos de

los 4 restantes) es de 5.75. También se han realizado EEG a 10 sujetos control sin ningún daño cerebral.

Los registros de EEG fueron adquiridos utilizando el sistema ECI Electro-Cap System TM, de ElectroCap International, Inc., compuesto de un gorro de 19 electrodos situados según el sistema internacional 10–20 y digitalizados a una frecuencia de adquisición de 256 Hz. Los datos se procesan con un filtro notch a 50 Hz para suprimir el artefacto debido al suministro eléctrico y posteriormente se filtran en el rango de frecuencias [2–40] Hz.

DATOS SIMULADOS Y SEMI-SIMULADOS

4. Datos simulados y semi-simulados

4.1 Generación de trenes de disparos con redes neuronales artificiales

Debido a que nuestro propósito es evaluar los métodos matemáticos para determinar la conectividad entre neuronas, generamos artificialmente trenes de disparo cuyas características conocemos previamente, ya que el conocimiento de todas las propiedades de la red (principalmente el patrón de conectividad) nos permite evaluar los resultados en la identificación. Para generar trenes de disparos artificiales consideramos redes neuronales compuestas por neuronas que siguen el modelo de Integración y Disparo (IF) y de Respuesta disparo (Spike response model SRM) (Gerstner, 2002).

Modelo neuronal de Integración y Disparo

El modelo de Integración y Disparo con pérdida es un ejemplo muy común para simular un sistema neuronal de disparo regular. La membrana neuronal se simula por un circuito eléctrico RC, donde R modela la resistencia y C la capacitancia de la membrana. El voltaje del circuito $V(t)$ (potencial de membrana) que describe el grado de activación de la neurona por debajo del umbral esta dado por:

$$C \frac{dV}{dt} = -\frac{1}{R}V(t) + I(t) \quad (1)$$

donde $I(t) = I_0 + I_{syn}(t) + \zeta(t)$ es la corriente externa. En respuesta a un pulso de corriente constante, I , el modelo tenderá exponencialmente hacia un estado de reposo dado por el voltage $V = IR$, tal que $V(t) = IR(1 - e^{-t/\tau})$, donde τ es la constante de tiempo dada por $\tau = RC$. La neurona integra sus entradas (external o sinápticas) y dispara cuando se alcanza un umbral establecido, $V = V^*$. La corriente umbral mínima requerida para conducir a la neurona hasta el umbral es $I_{umbral} = V^* / R$. Una neurona de Integración y Disparo puede estimularse debido a corrientes externas (estímulo) o por entradas sinápticas desde neuronas presinápticas. La corriente de entrada del estímulo puede causar que la neurona dispare repetida y regularmente incluso en ausencia de

entrada sináptica desde otras neuronas. La curva de frecuencia de disparo frente a corriente está entonces dado por:

$$f(I) = \begin{cases} 0 & \text{si } I < I_{umbral} \\ \left(t_{ref} - \tau \log \left(1 - \frac{V^*}{IR} \right) \right)^{-1} & \text{si } I > I_{umbral} \end{cases} \quad (2)$$

Donde t_{ref} es el periodo refractario. Sin embargo también podemos considerar a la neurona como componente de una red neuronal y no como una entidad aislada, en cuyo caso debemos modelar las corrientes sinápticas y suponemos que $I(t)$ está generada por la actividad de neuronas presinápticas. En el contexto del modelo de Integración y Disparo, cada disparo presináptico genera un pulso de corriente postináptico. Es decir, si la neurona presináptica j ha disparado una espiga en el instante t_j^f , una neurona i “siente” una corriente que evoluciona en el tiempo como $\alpha(t - t_j^f)$. La corriente de entrada total a la neurona i es la suma sobre todos los pulsos de corriente:

$$I_i(t) = \sum_j w_{ij} \sum_f \alpha(t - t_j^f) \quad (3)$$

El factor w_{ij} es una medida de la eficacia de la sinápsis desde la neurona j a la i . Por tanto, si una neurona recibe espigas de otra su potencial de membrana cambia. Una espiga recibida en el instante \hat{t} provoca una corriente sináptica que se podemos aproximar por:

$$I_{syn}(t - \hat{t}) = w \frac{\Gamma(t - \hat{t})}{\lambda} e^{-(t - \hat{t})/\lambda} \quad (4)$$

donde λ la constante sináptica (10-100 ms) y Γ es la función “escalón” que asegura que la corriente sináptica notificada por la neurona postsináptica comienza a partir del instante \hat{t} . Las corrientes sinápticas provocadas por diferentes espigas se suman. Para describir la variabilidad en la dinámica de la neurona y emular las fluctuaciones del entorno y/o tener en cuenta la actividad de neuronas “no observadas”, incluimos una corriente estocástica, $\zeta(t)$, en las ecuaciones del modelo.

Modelo neuronal de respuesta disparo

El modelo de respuesta disparo es una generalización del modelo de Integración y Disparo con pérdida, donde los parámetros dependen del instante en que ocurrió el último disparo. Una diferencia con el anterior modelo es que IF está definida en terminos de ecuaciones diferenciales mientras que SRM expresa el potencial de membrana en el tiempo t como una integral sobre el pasado. La dependencia explicita del potencial de membrana del último disparo permite modelar el carácter refractario como una combinación de tres componetes: i) incremento del umbral después de disparar, ii) hiperpolarización y iii) reducción de la respuesta neuronal después del disparo.

El potencial de membrana de una neurona, k , queda definida en este modelo por dos términos:

$$h_k(t) = h_k^{ref}(t - \hat{t}) + h_k^{syn}(t) \quad (5)$$

donde $h_k^{ref}(t - \hat{t})$ es un kernel que describe el comportamiento de refractario de la neurona, \hat{t} es el instante del último evento de disparo que ha realizado la neurona y $h_k^{syn}(t)$ describe el efecto de la señal de entrada sináptica desde las otras neuronas del sistema. El comportamiento de refractario se modela como:

$$h^{ref}(s) = \begin{cases} 0 & \text{for } s \leq 0 \\ -\infty & \text{for } 0 < s \leq s^{ref} \\ \frac{\eta_0}{s^{ref} - s} & \text{for } s > s^{ref} \end{cases} \quad (6)$$

donde s^{ref} es el periodo refractario absoluto y η_0 define la escala de recuperación. Los cambios en el potencial de membrana en el soma debidos a un disparo que llega (potencial post-sináptico) se describe por el kernel (función α):

$$\varepsilon(s) = \frac{s}{\tau_\varepsilon^2} \exp\left(-\frac{s}{\tau_\varepsilon}\right) \quad (7)$$

donde τ_ε es la constante de retraso sináptico. Para calcular $h_k^{syn}(t)$, la contribución de un disparo se suma sobre todos los disparos de todas las neuronas pre-sinápticas:

$$h_k^{syn}(t) = \sum_{n=1, n \neq k}^N w_{kn} \int_0^\infty ds \mathcal{E}(s) \sum_j \delta(t-s-t_j^n) \quad (8)$$

donde $\{w_{kn}\}$ es la matriz de conectividad, y $\{t_j^n\}$ son los tiempos de disparo de la neurona n . Las ecuaciones anteriores junto a un umbral establecido, θ , definen un modelo determinista. En presencia de ruido, la neurona podría emitir un disparo incluso si el potencial de membrana no ha alcanzado el umbral o, por otra parte podría no disparar si el potencial de membrana cruza el umbral durante un corto intervalo de tiempo. Una forma simple de tratar el ruido es introducir una probabilidad de disparo:

$$P = \frac{1}{2} \left(1 + \tanh[\beta(h(t) - \theta)] \right) \quad (9)$$

donde el parámetro β determina la cantidad de ruido interno. La probabilidad de disparo es igual a $\frac{1}{2}$ para $h(t) = \theta$ y tiende asintóticamente a cero para $h(t) \rightarrow -\infty$ y a uno para $h(t) \rightarrow +\infty$.

4.2 EEG semisimulados

Generamos datos de EEG semi-simulados mezclando por una parte épocas consecutivas libres de artefactos preseleccionadas a partir de un EEG real de un sujeto sano en estado de reposo de forma que compongan un segmento de 15 segundos y por otro dos tipos de artefactos simulados: un ocular y un pulso cardiaco. Perseguimos generar un EEG donde la forma del artefacto, la distribución espacial y la topografía en el cuero cabelludo concuerden con lo observado en datos reales. Para la mezcla usamos una matriz de composición estimada a partir de un EEG real (Hori *et al.*, 2004; Delorme *et al.*, 2005). Para reproducir la forma de un episodio de parpadeo usamos un proceso estocástico de Poisson y lo filtramos en pasa banda a 1-3 Hz, y de 0.3 s por episodio. El pulso cardiaco se simula con un tren de pulsos a 1 Hz.

MÉTODOS MATEMÁTICOS

5. Métodos matemáticos

En este capítulo presentamos los métodos matemáticos empleados con diferentes fines: i) determinación de la conectividad funcional, ii) reducción de la dimensión, clasificación y discriminación de los datos, y iii) eliminación de artefactos en el EEG.

5.1 Conectividad funcional

Basandonos en trenes de disparos registrados simultáneamente de varias neuronas pretendemos establecer las conexiones funcionales entre ellos.

Un tren de disparo es un proceso puntual o secuencia de eventos de disparo, donde quedan registrados únicamente los tiempos de ocurrencia de cada disparo. Por ejemplo en la figura 7 el tren describe el conjunto de los tiempos de ocurrencias de disparos $\{t_i\} = \{0.05, 0.27, 0.32, 0.45, 0.5, 0.57, 0.65, 0.8, 0.85, 0.97\}$ s. Otra opción es discretizar el tiempo y representar el tren como una señal binaria, donde el potencial neuronal queda dividido en ventanas temporales cuya longitud se define por la frecuencia de muestreo elegida. Aquellas ventanas que contengan la ocurrencia de un potencial de acción tendrán un valor 1 mientras que un 0 indicaría la ausencia de disparo (figura 6).

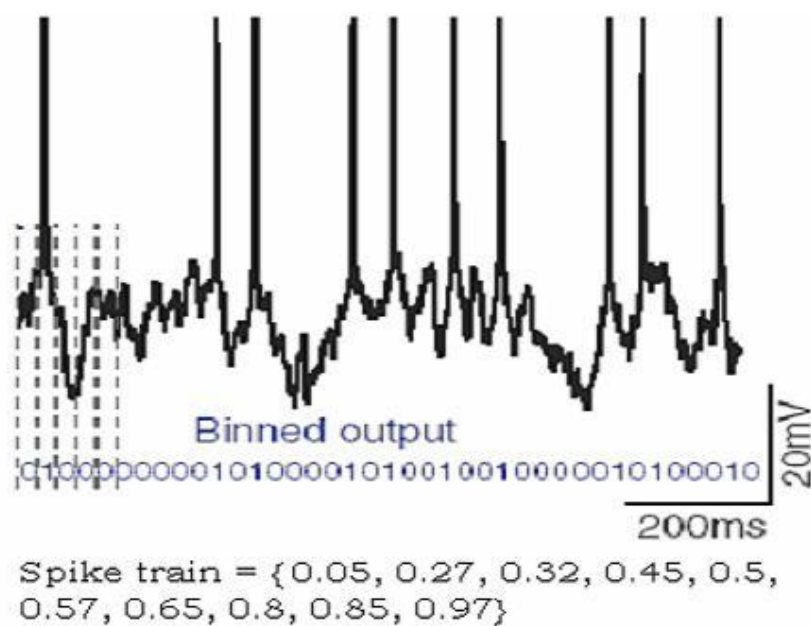


Figura 7: Representación del tren de disparo como un proceso puntual (secuencia de los tiempos en que ocurre cada potencial de acción) o como una señal binaria donde “1” indica la ocurrencia de un disparo y “0” la ausencia.

5.1.1 Dominio de tiempo: Histograma de correlación

En 1967 Perkel y sus colaboradores (Perkel *et al.*, 1967a, 1967b) introdujeron en neurociencia el concepto de Correlación Cruzada (CC), una herramienta relacionada con la probabilidad de encontrar un disparo de una neurona en el instante de tiempo $t + \tau$ dado un disparo de otra neurona en un instante anterior t , de esta forma se incorpora el concepto de retraso en la transmisión sináptica, τ , y se dota así de información temporal a la medida. La función de correlación es, por tanto, una medida del nivel de coincidencia cuyo ánimo es determinar cómo dos procesos están relacionados entre sí y con qué retraso (Fig. 8).

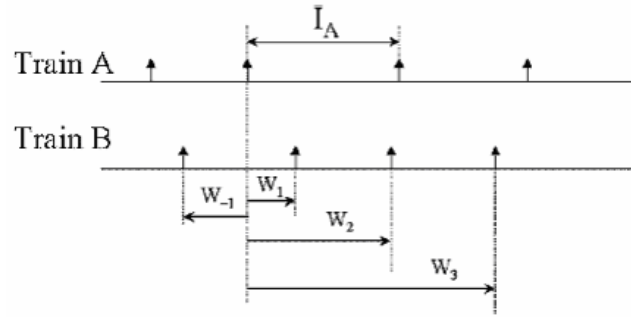


Figura 8: Tiempos transcurridos entre el disparo de la neurona N (tren A) y los disparos generados por la neurona M (tren B): $\{w_{-1}, w_1, w_2, w_3, \dots\}$.

La CC para una pareja de trenes de disparo binarios puede obtenerse como el producto de los dos procesos evaluados en diferentes tiempos, uno en t y el otro desplazado temporalmente $t + \tau$, sumado sobre todos los tiempos t . Formalmente, sean $N(t)$ y $M(t)$ dos trenes de disparos estacionarios, el histograma de correlación está definida como una función del retraso (o desplazamiento temporal), τ , dada por:

$$C_{N,M}(\tau) = \sum_{\tau} N(t) \cdot M(t + \tau) dt \quad (1)$$

Los picos y valles en tal histograma indican el cambio de probabilidad de ocurrencia de un disparo debido a la presencia de otro, sugiriendo por tanto la presencia de una sinapsis excitadora o inhibidora, respectivamente.

Al correlacionar una señal consigo misma, obtenemos la Auto correlación que nos proporciona información sobre cómo una señal en un tiempo está relacionada consigo misma en otro tiempo, es decir evidencia el comportamiento cíclico del tren. Por tanto, los picos rítmicos en el histograma de Auto correlación indican la actividad oscilatoria de la neurona. Por otra parte, cuando se considera la correlación entre el tren de disparo neuronal y el tren de eventos de estimulación, tenemos lo que se conoce como el histograma Peristímulo (PSTH; Peri Stimulus Time Histogram). En este caso estudiamos el tiempo que tarda en responder (disparar) una neurona después del evento ON de estimulación. La altura y posición del pico, cuando lo hubiese, define la amplitud la fuerza de la respuesta y la latencia al estímulo, respectivamente.

5.1.2 Dominio de frecuencia (Transformada de Fourier)

Los métodos desarrollados en el dominio de frecuencias tienen como punto de partida la estimación del espectro de la señal a partir de la transformada de Fourier, que permite descomponer la señal en sus componentes sinusoidales de diferentes frecuencias. Es en este punto donde surge una gran diferencia entre procesos puntuales (trenes de disparo) y las series continuas (EEG o LFP). Para ambos tipos de datos asumimos que son estacionarios y satisfacen que eventos ampliamente separados en el tiempo son independientes.

Transformada de Fourier para trenes de disparo

El procedimiento más usual para determinar el espectro de una señal es tomar el modulo al cuadrado de la transformada de Fourier de los datos. Esta estimación se conoce como periodograma.

Consideremos un tren de disparo como un proceso puntual dado por los tiempos de disparos, $\{t_i\}$. Sobre estos datos es conveniente definir el proceso $N(t)$ como el número de disparos que ocurren entre el comienzo del intervalo ($t=0$) y el tiempo t . Esta función crece con el tiempo (Fig. 9), lo que no es beneficioso ya que supone un pico artificial dependiente del intervalo a bajas frecuencias en el espectro. Para evitar esto se toma el siguiente proceso de media cero $\bar{N}(t) = N(t) - \phi t$, donde ϕ es la tasa media (Fig. 9). Notar que

$d\bar{N}(t) = \bar{N}(t+dt) - \bar{N}(t)$, que puede ser $1-\phi dt$ o $-\phi dt$ dependiendo de si ha habido un disparo en el intervalo dt . Por tanto, $d\bar{N}(t)/dt$ es una serie de funciones delta (para $dt \rightarrow 0$) donde se ha sustraído la media.

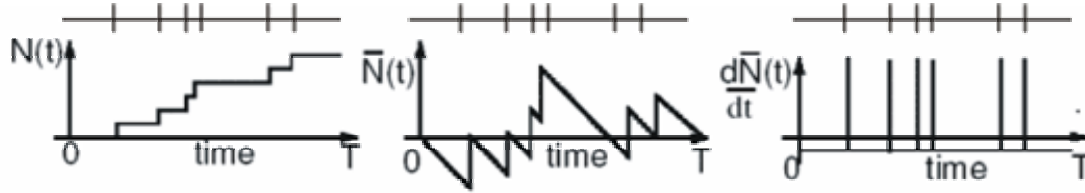


Figura 9: Ejemplo ilustrativo de cómo están relacionados los procesos $N(t)$, $\bar{N}(t)$ y $d\bar{N}(t)/dt$. Las líneas verticales en el proceso $d\bar{N}(t)/dt$ simbolizan funciones delta. Con fines ilustrativos se representa sobre cada proceso el tren de disparo.

Consideramos que los trenes de disparo son estacionarios de primer y segundos orden. Esto supone que las medias de sus respectivos momentos de primer y segundo orden no dependen del tiempo absoluto. La estacionaridad de segundo orden implica que la tasa media de disparo (ϕ) es independiente del tiempo y que la auto-covarianza depende sólo del intervalo (τ) y no del tiempo absoluto. Los momentos de primer y segundo orden de un tren de disparos para un proceso estacionario vienen dados por:

$$\langle dN(t) \rangle / dt = \phi \quad (2)$$

$$\langle d\bar{N}(t) \rangle / dt = 0 \quad (3)$$

$$\mu(\tau) + \phi\delta(\tau) = \frac{\langle d\bar{N}(t)d\bar{N}(t+\tau) \rangle}{dt d\tau} \quad (4)$$

El espectro $S(\lambda)$ es la transformada de Fourier de la función de auto-covarianza:

$$S(\lambda) = \phi + \int_{-\infty}^{\infty} \mu(\tau) \exp(-2\pi i \lambda \tau) d\tau \quad (5)$$

Normalmente la auto-covarianza se estima como $\mu(t)$ pero para hallar la transformada de Fourier necesitamos la auto-covarianza completa $\mu(\tau) + \phi\delta(\tau)$. La incorporación de esta función delta lleva a una constante “offset” del espectro. Este offset es una diferencia importante entre los procesos continuos y los puntuales. Consideramos un segmento de longitud T , tomada como la

potencia de 2 más cercana a la longitud de los datos para mejorar el rendimiento del algoritmo de estimación del espectro que vamos a usar. De forma general, un estimador espectral es el modulo cuadrado de la transformada de Fourier de los datos, pero donde los datos se multiplican por una función envolvente $h(t)$, conocida como “taper” (Percival y Walden, 1993). De esta forma, la transformada de Fourier puede calcularse sin necesidad de transformar el tren de disparo a una señal binaria. La transformada de Fourier, $d_N(\lambda)$, del tren de disparos N se define como:

$$d_N^T(\lambda) = \int_0^T h(t) e^{-2\pi i \lambda t} dN(t) \quad (6)$$

donde $\int_0^T h(t)^2 dt = 1$, ya que se ha escalado como $1/\sqrt{T}$ debido a que la longitud está alterada. Esto asegura una normalización apropiada de la transformación de Fourier cuando el tamaño de la muestra varía. Teniendo en cuenta la expresión completa de la auto-covarianza dada en la ecuación 2.3, la transformada de Fourier de una secuencia de disparos $\{t_i\}$ viene dada por:

$$d(\lambda) = \sum_{j=1}^{N_s} h(t_j) \exp(-2\pi i \lambda t_j) - \frac{N_s H(\lambda)}{T} \quad (7)$$

donde N_s es el número de disparos que ocurren en el intervalo de tiempo considerado y $H(\lambda)$ es la transformada de Fourier del taper.

El estimador mediante ventanas temporales está basado en la idea de que frecuencias cercanas proporcionan estimaciones independientes. Sin embargo la estimación no es muy sistemática ya que uno debería ser capaz de descorrelacionar explícitamente frecuencias cercanas sabiendo que las ventanas de tamaño finito introducen correlaciones. Es decir, la segmentación de la señal en ventanas (generalmente rectangulares) conlleva una pérdida de la resolución de frecuencias proporcional al inverso de la longitud del segmento. Por otro lado, la elección de ventanas rectangulares provoca la aparición de frecuencias espurias debido a los efectos de borde. Para solventar este problema se propone la estimación espectral multi-taper. La idea básica de la estimación espectral multi-taper es promediar las estimaciones espectrales a partir de varios tapers ortogonales (Fig. 10). La estimación

espectral multitaper ha sido aplicada a señales neurológicas, tanto en procesos continuos (Mitra & Pesaran, 1999) como en trenes de disparo (Pesaran, Pezaris, Sahani, Mitra, & Andersen, 2000). La estimación del espectro, $S_N(\lambda)$, de un tren de disparo, N , considerando L tapers viene dada por tanto por:

$$S_N(\lambda) = \frac{1}{K} \sum_{l=1}^L |d_N(\lambda, l)|^2 \quad (8)$$

La ortogonalidad de los tapers asegura que las estimaciones no están correlacionadas para muestras largas. Una cuestión crítica es la elección del conjunto de tapers ortogonales. Una elección común son las secuencias Slepianas, que están definidas por la propiedad de que están máximamente localizadas en frecuencia.

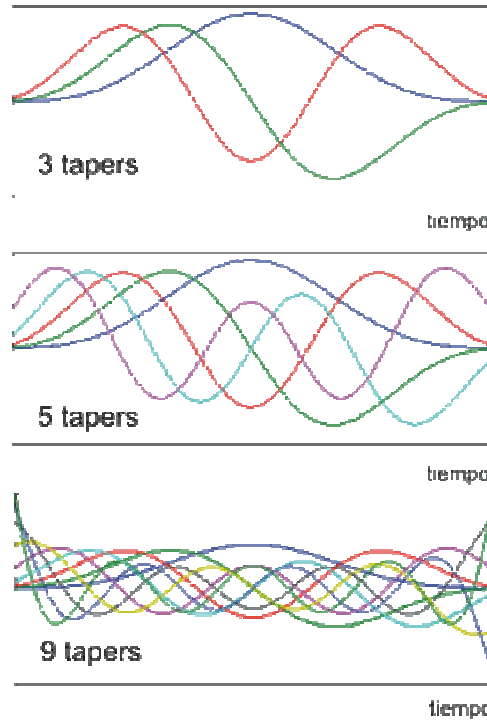


Figura 10: Conjunto de 3, 5 y 9 tapers. La idea básica de la estimación espectral multi-taper es promediar las estimaciones espectrales a partir de varios tapers ortogonales.

En este trabajo hemos usado 40 tapers para la estimación del espectro de los trenes de disparos.

Transformada de Fourier para series temporales continuas

El procedimiento del cálculo de la transformada finita de Fourier comienza con el método de secciones inconexas (Rosenberg *et al.*, 1989), por el que se definen intervalos para la estimación de los parámetros. La señal queda dividida en L segmentos no coincidentes de longitud T . De esta forma se estima la transformada de Fourier para cada segmento y se promedia sobre ellos. La transformada de Fourier de un segmento de longitud T de una serie temporal continua, $x(t)$, puede escribirse como:

$$d_X^T(\lambda) = \int_0^T x(t) e^{-i\lambda t} dt \quad (9)$$

Debido a que $x(t)$ es una serie regularmente muestreada, su espectro puede ser evaluado directamente por el algoritmo FFT:

$$d_X^T(\lambda_j) \approx \sum_{t=0}^T e^{-i\lambda_j t} x_t \quad (10)$$

donde x_t es el valor de muestra de $x(t)$ en el instante t . A partir de esta estimación de la transformada de Fourier podemos definir el espectro como el promedio de los L segmentos:

$$S_N(\lambda) = \frac{1}{2\pi TL} \sum_{l=1}^L |d_N(\lambda, l)|^2 \quad (11)$$

Esta ecuación proporciona la descomposición de Fourier de $x(t)$ en sus constituyentes componentes de frecuencias, por lo que se distinguen las componentes periódicas en los datos (Brillinger, 1983).

Coherencia espectral

Una vez estimada la transformada de Fourier de cada señal, el paso inmediato es la coherencia espectral. El método de la coherencia espectral (**SC**) interpreta los datos en el espacio de frecuencias, donde el correspondiente parámetro de segundo orden (lineal) es el espectro cruzado entre los dos procesos $N(t)$ y $M(t)$. El espectro cruzado puede interpretarse como la correlación entre los procesos a frecuencia λ :

$$f_{NM}(\lambda) = \frac{1}{2\pi LT} \sum_{l=1}^L d_N^T(\lambda, l) \bar{d}_M^T(\lambda, l) \quad (12)$$

promediados sobre los L tapers o secciones según tratemos con trenes de disparos o series continuas, respectivamente. Consecuentemente, el espectro cruzado nos va a indicar si los dos procesos son linealmente independientes y a qué frecuencias. La SC es una medida normalizada de asociación entre dos trenes de disparo:

$$\left| R_{NM}(\lambda) \right|^2 = \frac{\left| f_{NM}(\lambda) \right|^2}{f_{MM}(\lambda) f_{NN}(\lambda)} \quad (13)$$

Donde f_{NM} y f_{NN} son el espectro cruzado y auto-espectro de las señales. Para concluir si dos procesos son linealmente independientes debe establecerse un valor de significancia estadística (vease abajo) para cada frecuencia de forma que valores de SC por debajo de este umbral suponga que las señales no están correlacionadas a esa frecuencia y viceversa si la SC supera el nivel de significancia la hipótesis nula (los dos procesos son independientes) puede ser rechazada. $|R|^2 = 1$ indica una perfecta relación lineal entre los dos procesos.

Coherencia espectral parcial

SC estima la asociación directa entre dos procesos. Sin embargo, para inferir si dos sistemas están conectados directa o indirectamente (vía otro/s sistemas) se ha propuesto la Coherencia espectral parcial (**PSC**), basada en una medida de asociación entre los dos sistemas después de que los efectos lineales de los otros sistemas hayan sido sustraídos. El espectro cruzado parcial entre dos procesos $N(t)$ y $M(t)$ después de suprimir los efectos lineales de un tercero $C(t)$ viene dado por (Brillinger, 1981):

$$f_{NM/c}(\lambda) = f_{NM}(\lambda) - f_{NC}(\lambda) f_{CC}^{-1}(\lambda) f_{CM}(\lambda) \quad (14)$$

donde $f_{NM/c}(\lambda)$ puede interpretarse como la probabilidad correspondiente a los procesos $N(t)$ y $M(t)$ sin la influencia de $C(t)$, $f_{NM}(\lambda)$ es la probabilidad de que se den los procesos $N(t)$ y $M(t)$ y $f_{NC}(\lambda) f_{CC}^{-1}(\lambda) f_{CM}(\lambda)$ es la probabilidad de que se den los procesos $N(t)$ y $M(t)$ dado $C(t)$. Esta puede hallarse teniendo en cuenta la probabilidad de Bayes. La independencia condicional puede formularse en términos de la inversa de la matriz espectral. En general

para un sistema multivariable se define la matriz $g(\lambda)$, como $g(\lambda) = f^{-1}(\lambda)$ la inversa de la matriz de densidad espectral, y C denota todos los demás sistemas excepto $N(t)$ y $M(t)$. Por tanto la PSC puede expresarse como (dalhaus *et al.*, 1997):

$$\left| R_{NM/C}(\lambda) \right|^2 = \frac{|g_{NM}(\lambda)|^2}{g_{MM}(\lambda)g_{NN}(\lambda)} \quad (15)$$

Para decidir si los dos sistemas están acopladas directamente o no se aplica el mismo criterio del test de significancia que para SC.

Métodos basados en la causalidad de Granger

La causalidad de Granger (Granger, 1969) entre dos series temporales establece que una serie temporal $N(t)$ es causante - Granger de otra serie $M(t)$, si el conocimiento del pasado de $N(t)$ mejora significativamente la predicción de $M(t)$. De acuerdo a la definición, un marco apropiado para el estudio de la conectividad neuronal es el Modelo AutoRegresivo Multi-Variable (MVAR) (Bernasconi *et al.*, 1999):

$$N(t) = \sum_{r=1}^p A(r)N(t-r) + \varepsilon(t), \quad (16)$$

donde N representa el vector de las K señales registradas en el tiempo t (k trenes de disparo o las k señales de EEG), $N(t) = \{N_1(t), N_2(t), \dots, N_K(t)\}$, A es la matriz de coeficientes de predicción (causalidad), ε es el vector de valores de ruido blanco y p es el orden del modelo. En este contexto, podemos interpretar la predicibilidad en términos de los coeficientes de causalidad dados por la matriz A . Basado en esos coeficientes se han propuesto varios métodos para estimar los patrones de conectividad de una red neuronal.

Coherencia dirigida parcial

Sameshima y Blinowska (1999) propusieron una medida llamada Coherencia dirigida parcial (Partial Directed Coherence, **PDC**) basada en la matriz de coeficientes en el dominio de frecuencias, \bar{A} :

$$\bar{A}_{ij}(\lambda) = \begin{cases} 1 - \sum_{r=1}^p A_{ij}(r)e^{-i2\pi\lambda r} & \text{si } i = j \\ -\sum_{r=1}^p A_{ij}(r)e^{-i2\pi\lambda r} & \text{si } i \neq j \end{cases} \quad (17)$$

Por tanto, la PDC desde el sistema j al i viene dada por:

$$\Pi_{ij}(\lambda) = \frac{\bar{A}_{ij}(\lambda)}{\sqrt{\sum_{i=1}^K \bar{A}_{ij}^*(\lambda) \cdot \bar{A}_{ij}(\lambda)}} \quad (18)$$

Esta medida trabaja en el espacio de frecuencias y permite distinguir los casos de conexión indirecta.

Función de transferencia dirigida

Por otra parte, Kaminski and Blinowska (1991) propusieron una medida normalizada en el espacio de frecuencias, la función de transferencia dirigida (Directed Transfer Function, **DTF**), que depende de la matriz de función de transferencia definida como $H = (I - A)^{-1}$ de forma que se define:

$$\gamma_{ij}^2(\lambda) = \frac{|H_{ij}(\lambda)|^2}{\sum_{m=1}^k |H_{im}(\lambda)|^2} \quad (19)$$

La DTF puede interpretarse como la influencia desde el sistema j al i y está acotada en el rango $[0, 1]$.

Una desventaja de la DTF es que no permite detectar conexión indirecta, mediada por otro/s sistemas. Para resolver dicha limitación, se propuso una versión modificada de dicho método, Función de transferencia dirigida directa (direct Directed Transfer Function, **dDTF**) (Korzeniewska *et al.*, 2003) basada en la causalidad de Granger y en la coherencia espectral parcial que hemos expuesto anteriormente, $R_{NM/C}(\lambda)$. Esta nueva medida esta basada en una normalización en frecuencias:

$$\delta_{ij}^2(\lambda) = \frac{|H_{ij}(\lambda)|^2}{\sum_{freq} \sum_{m=1}^k |H_{im}(\lambda)|^2} |R_{NM/C}(\lambda)|^2 \quad (20)$$

Freiwald et al. (1999) han desarrollado medidas similares basadas en la causalidad de Granger en un marco no lineal, cuya aplicación en neurociencia ha sido muy limitada hasta el momento.

Para decidir si los dos sistemas están acoplados directamente o no según estas medidas podemos se aplica el mismo criterio de significancia estadística que los empleados para SC y PSC, y que exponemos a continuación.

5.1.3 Test de significancia estadística

Aunque un alto valor de la coherencia (o cualquier otra función de asociación) supone normalmente la presencia de una relación de fase consistente (acoplo) entre dos sistemas neuronales en un intervalo de tiempo dado, esta puede ser debida a una variación casual aleatoria en la señal neuronal. Por tanto, debe considerarse un test estadístico de significancia de la función observada. Para ello debemos encontrar el nivel de filtración aleatoria entre canales, lo que supone que debemos destruir toda dependencia de fase entre las señales. Para evaluar este nivel de significancia usamos el test de datos “barajados” (Theiler *et al.*, 1992; Schreiber y Schmitz, 2000) con simulaciones Monte – Carlo para establecer el nivel del 95 % de intervalo de confianza. Una vez más establecemos una diferencia para trenes de espigas y para series continuas.

La significancia estadística de la función de asociación entre dos trenes de disparo puede calcularse relativa a la hipótesis nula de que dos señales generadas por procesos independientes estacionarios con una determinada distribución de intervalos entre espigas no están acoplados. Los trenes de disparos “barajados” se obtienen a partir de los originales de forma que las relaciones de fase sean aleatorias pero se mantengan invariables las características de primer orden. Generamos X pares de trenes de disparos permutando los intervalos entre espigas pero dejando inalterada la distribución de los mismos. Calculamos la función de asociación entre cada par de trenes de disparos “barajados”, promediamos la función de asociación para los X pares generados, y éste es el nivel de significancia que utilizaremos para concluir sobre la existencia de acoplamiento entre trenes de disparos.

Para señales continuas el procedimiento es el siguiente: transformamos la señal al dominio de frecuencias mediante la transformada de Fourier y multiplicamos cada amplitud por $e^{i\varphi}$, donde la fase φ es elegida aleatoriamente para cada frecuencia en un intervalo $[0, 2\pi]$. Volvemos al dominio de tiempo mediante la transformada inversa de Fourier, que para que sea real simetrizamos las fases, tal que $\varphi(-\lambda) = \varphi(\lambda)$. La transformada inversa nos proporciona los datos “barajados”, que tienen el mismo espectro de potencias que los originales pero fases aleatorias y que son la base para determinar el acoplo umbral para inferir en la asociación entre señales.

Para concluir positivamente en la conectividad entre dos trenes de disparos, su función de asociación debe tener valores por encima del nivel de significancia obtenido (véase el ejemplo para la función de asociación coherencia en la figura 11).

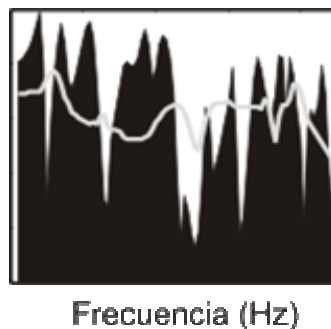


Figura 11: Función de asociación (SC, PSC, DTF, dDTF, PDC) entre un par de neuronas o sistemas neuronales en función de la frecuencia. En este acso se representa como ejemplo la coherencia entre dos señales de EEGs. Nivel de significancia (línea gris) obtenido con el método de datos barajados que marca el umbral para concluir positivamente sobre la conectividad en aquellas frecuencias que la función de asociación supere dicho nivel.

5.1.4 Dominio de tiempo – frecuencia (Transformada wavelet)

En el análisis de señales existe un gran número de herramientas entre las que destacan la transformada de Fourier y la correlación cruzada. Sin embargo, desde hace unos 20 años se han ido desarrollando nuevas herramientas que permiten realizar un análisis de las señales desde otra perspectiva, surgida principalmente ante la necesidad de poder analizar señales que no se comportan de forma estacionaria, o que presentan cambios bruscos en

intervalos muy pequeños. Entre estas nuevas herramientas se encuentra la teoría Wavelet.

La transformada de Fourier permite descomponer una señal en sus componentes sinusoidales de diferentes frecuencias proporcionando así las propiedades espectrales de la señal, es decir permite pasar de una representación en el dominio de tiempo al dominio de frecuencia. Al pasar una señal al dominio de la frecuencia se pierde la información referente al tiempo; más precisamente, cuando se observa una señal producto de la transformada de Fourier, resulta imposible determinar *cuándo* ocurre un determinado evento o *cuándo* está presente una determinada frecuencia. Si las propiedades de la señal que se está analizando no cambian demasiado en el tiempo, es decir, si se está trabajando con una señal que podemos considerar estacionaria, esta desventaja no resulta muy relevante (como en el caso de señales periódicas, por ejemplo). En el caso de señales estacionarias, no interesa saber cuándo ocurre una determinada frecuencia, ya que esta ocurre siempre (con una probable variabilidad estacionaria en su amplitud). Sin embargo, un importante número de señales de interés, sobre todo señales neuronales, presentan características no estacionarias o transitorias, tales como una tendencia, cambios abruptos, comienzos o finales de eventos, etc. A menudo, estas características no estacionarias resultan ser las secciones más interesantes de las señales, y la transformada de Fourier no está preparada para detectarlas y/o analizarlas.

En un esfuerzo por corregir las limitaciones anteriormente mencionadas de la transformada de Fourier, en 1946 Denis Gabor adaptó la transformada de Fourier para poder analizar una pequeña sección de la señal en un determinado tiempo, estableciendo una ventana. Esta adaptación, conocida como STFT (Short Time Fourier Transform), lleva una señal del plano del tiempo al plano bidimensional de tiempo y frecuencia. STFT se construye trasladando en el tiempo y frecuencia una ventana temporal, $g(t)$. En un tiempo dado, u , y una frecuencia dada, ζ , la ventana cumple:

$$g_{u,\zeta}(t) = g(t-u)e^{i\zeta t} \quad (21)$$

La energía de $g_{u,\zeta}$ se concentra en la vecindad de u sobre un intervalo de tamaño σ_ω , que mide el dominio donde la ventana espectral $\hat{g}(\omega)$ no se anula.

En el plano de tiempo y frecuencia (t, ω) , la extensión de energía de $g_{u,\zeta}$ se representa simbólicamente mediante el rectángulo de Heisenberg (figura 12), que representa la incertidumbre. Este rectángulo está centrado en (u, ζ) y tiene una anchura temporal σ_t y de frecuencia σ_ω . El principio de incertidumbre establece que esta área satisface: $\sigma_t \sigma_\omega \geq \frac{1}{2}$. Esta área es mínima cuando g es Gaussiana, en cuyo caso $g_{u,\zeta}$ son llamadas funciones de Gabor.

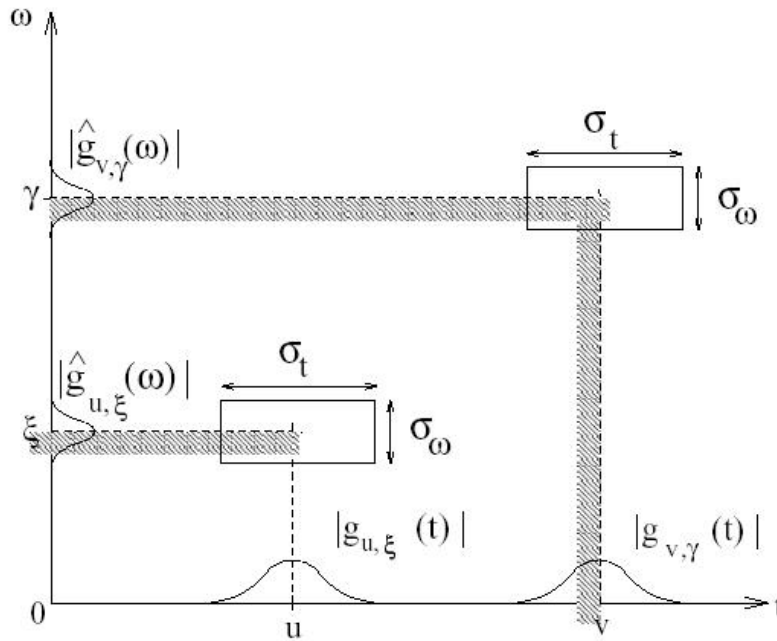


Figura 12. Rectángulos de Heisenberg (en tiempo-frecuencia (t, ω)), que representan la extensión de energía de las funciones de Gabor.

La STFT definida por Gabor correlaciona la señal f con cada función $g_{u,\zeta}$:

$$Sf(u, \zeta) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(t) g_{u,\zeta}^*(t) dt = \int_{-\infty}^{+\infty} f(t) g(t-u) e^{-i\zeta t} dt \quad (22)$$

Es una integral de Fourier localizada en la vecindad de u por la ventana $g(t-u)$. Esta integral temporal puede escribirse como una integral en frecuencias aplicando la fórmula de Fourier Parseval:

$$S_f(u, \zeta) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} \hat{f}(\omega) \hat{g}_{u,\zeta}^*(\omega) d\omega \quad (23)$$

La transformada $Sf(u, \zeta)$ depende solo de los valores de $f(t)$ y $\hat{f}(\omega)$ en la vecindad en tiempo y frecuencia donde se concentran las energías de $g_{u,\zeta}$ y

$\hat{g}_{u,\zeta}$. Gabor lo interpreta como un “quantum de información” sobre el rectángulo en tiempo – frecuencia (figura 4). La STFT representa un compromiso entre el dominio de tiempo y el de frecuencia de una señal, ya que provee información acerca de *cuándo* y a *qué* frecuencia de una señal ocurre un determinado evento. Sin embargo, solamente se puede obtener dicha información con una precisión limitada y prefijada, la cual está acotada por el tamaño de la ventana. El inconveniente del compromiso entre la información de tiempo y frecuencia viene dado una vez que se escoge un determinado tamaño para la ventana de tiempo, dicha ventana es la misma para todas las frecuencias. Por ello a la STFT también se le llama análisis con resolución fijada. Aunque esta herramienta proporciona información temporal sobre el contenido armónico de la señal, muchas señales requieren un acercamiento más flexible, de tal modo que sea posible variar el tamaño de la ventana para determinar con mayor precisión el rango de tiempo o de la frecuencia.

Análisis wavelet: conceptos básicos

El análisis de wavelet representa un paso lógico siguiente a la STFT: una técnica mediante ventanas de tamaño variable. La generalización del concepto de resolución cambiante a diferentes frecuencias se obtiene mediante los llamados “paquetes wavelets”, donde la resolución tiempo-frecuencia puede ser arbitraria, aunque debe satisfacer la condición de incertidumbre, y se elige dependiendo de la señal. El análisis Wavelet permite el uso de intervalos grandes de tiempo en aquellos segmentos en los que se requiere mayor precisión en bajas frecuencias, e intervalos de tiempo más pequeños donde para frecuencias altas (Fig. 13).

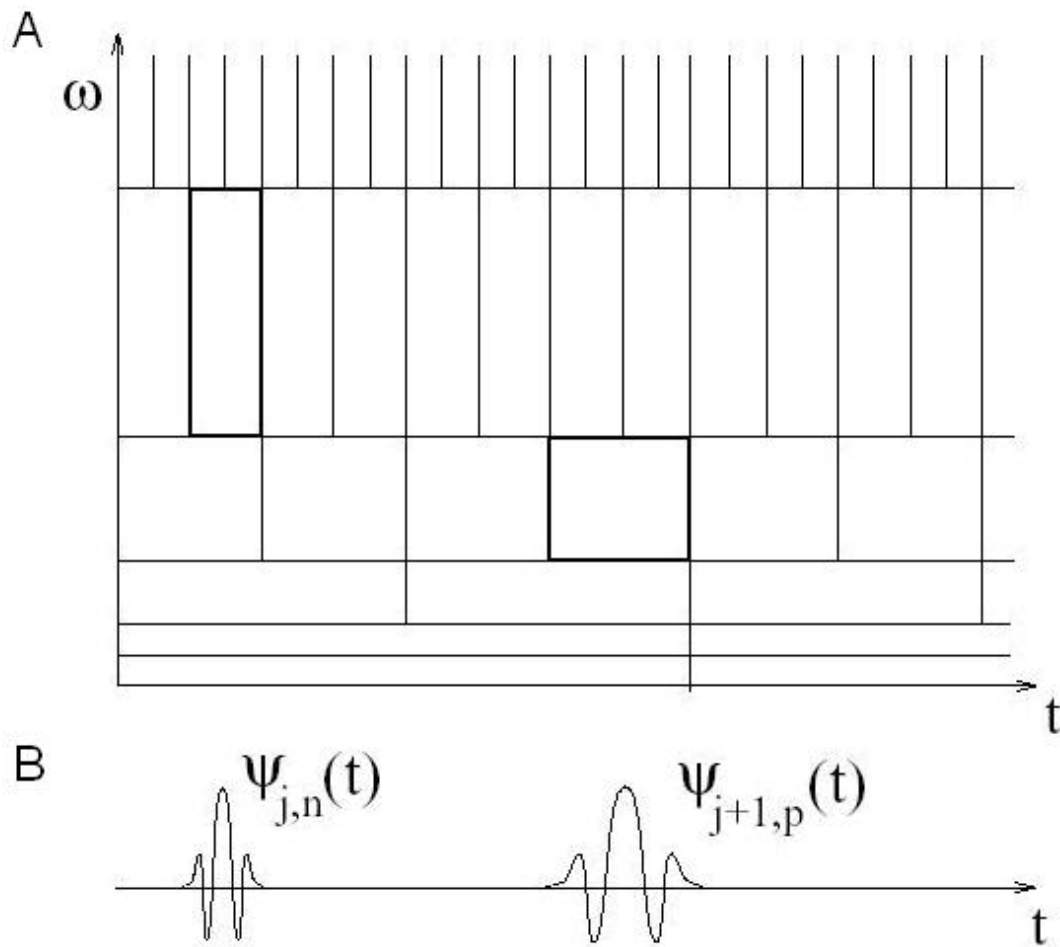


Figura 13: Estructura espacio-temporal del análisis wavelet. A) Los recuadros tiempo-frecuencia de una base wavelet definen el mosaico del plano tiempo-frecuencia. B) Funciones wavelet madre trasladadas en los espacios de tiempo y frecuencia.

Grosso modo, la señal en base de tiempo es pasada por varios filtros pasa-bajos y pasa-altos, los cuales permiten separar los segmentos de la señal de alta frecuencia de aquellas de baja frecuencia. Este procedimiento se repite sucesivamente, cada vez sobre las porciones de la señal correspondientes a aquellas frecuencias que han sido removidas de la señal original.

Proponemos un ejemplo de ilustración del procedimiento. Sea una señal que posee frecuencias hasta 1000 Hz. En la primera etapa se divide la señal en 2 partes, pasándola por un filtro pasa-alto y uno pasa-bajo. De este modo, se obtienen 2 versiones diferentes de la señal original: parte de la señal que corresponde al rango 0 – 500 Hz y la otra al rango 500 – 1000 Hz. Posteriormente, se toma una de esas partes (o ambas) y se repite el proceso. Suponiendo que se hace nuevamente este proceso con la parte de baja

frecuencia de la señal, y que en dicho resultado el proceso se vuelve a repetir en la parte de baja frecuencia, se tienen 4 partes de la señal original: 0 – 125 Hz, 125 – 250 Hz, 250 – 500 Hz y 500 – 1000 Hz. Se puede continuar con este proceso hasta que se haya descompuesto la señal en un determinado número de *niveles*. De este modo, se tienen un grupo de señales que representan a la misma señal, pero todas ellas corresponden a diferentes bandas de frecuencias.

Dado que se sabe a qué rango de frecuencias corresponde cada una de estas señales, es posible agruparlas y hacer un gráfico en 3 dimensiones: teniendo el tiempo en un eje, la frecuencia en otro y la amplitud en el tercero. De este modo es posible observar qué frecuencias ocurren a qué tiempo y con qué potencia. Notar que este procedimiento está sujeto al principio de incertidumbre, que establece que no es posible conocer exactamente qué frecuencia ocurre en un instante de tiempo determinado. Sin embargo, sí es posible conocer qué banda de frecuencia ocurre en un determinado intervalo de tiempo. Este mismo grupo de señales puede servir para regenerar (suprimir alguna componente por ejemplo ruido) la señal original, puesto que básicamente se trata de una descomposición en una base ortogonal. Esto implica que la transformada Wavelet tiene la propiedad de invertibilidad.

Wavelet madre

Formalizamos los conceptos e ideas anteriormente mencionadas. Una función wavelet, ψ , más conocida como la *Wavelet madre*, es una señal (o forma de onda) de duración limitada cuyo valor medio es cero (Farge, 1992).

$$\int_{-\infty}^{+\infty} \psi(t) dt = 0 \quad (24)$$

Comparando las funciones wavelet con las funciones sinusoidales (que son la base del análisis de Fourier), se puede resaltar que la principal diferencia radica en que las señales sinusoidales se extienden desde $-\infty$ a ∞ . Además, mientras las señales sinusoidales son suaves (sus derivadas son continuas), las señales wavelet pueden a ser irregulares y asimétricas (figura).

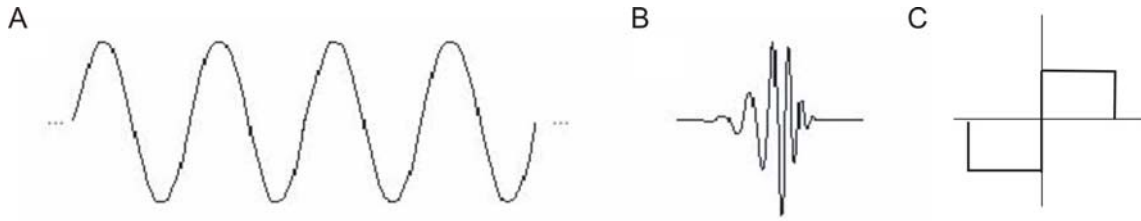


Figura 14: A) Señal sinusoidal, base del análisis de Fourier que se extiende desde $-\infty$ a ∞ . B) Wavelet db10 continua, diferenciable. C) Función wavelet haar.

La transformada Wavelet descompone la señal en versiones trasladadas (en tiempo) y escaladas (dilataciones y contracciones) de la Wavelet original. La función Wavelet es una función definida por un parámetro de escala, s , y traslación, u :

$$\psi(t) = \frac{1}{\sqrt{s}} \psi\left(\frac{t-u}{s}\right) \quad (25)$$

El factor $1/\sqrt{s}$ es normaliza la energía a cualquier escala s . La escala puede interpretarse como el inverso de la frecuencia y la traslación como el tiempo ya que representa el corrimiento en tiempo que presenta la señal Wavelet madre, por lo que tiene una estrecha relación con la escala de tiempo. Podemos hacer una analogía entre el factor de escala y la escala de los mapas: escalas muy largas suponen una vista global, mientras que escalas muy pequeñas suponen una visión detallada. La relación entre la escala wavelet, s , y la frecuencia de Fourier puede calcularse siguiendo el método de Meyers *et al.* (1993). Dicho método establece que la relación entre el periodo equivalente de Fourier y la escala wavelet puede derivarse analíticamente para una función wavelet en particular sustituyendo una onda coseno de frecuencia conocida en la transformada wavelet y computando la escala s a la cual el espectro de potencia wavelet al cance su valor máximo.

Transformada wavelet

La transformada Wavelet de una señal $f(t)$ a la escala s y posición temporal u se calcula correlacionando la función $f(t)$ con la Wavelet madre, ψ :

$$W(u, s) = \frac{1}{\sqrt{s}} \int_{-\infty}^{+\infty} f(t) \psi^*\left(\frac{t-u}{s}\right) dt \quad (26)$$

Aplicando la fórmula de Parseval la transformada de wavelet puede escribirse como una integración en el dominio de frecuencia:

$$W(u, s) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(t) \psi_{u,s}^*(t) dt = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} \hat{f}(\omega) \hat{\psi}_{u,s}^*(\omega) d\omega \quad (27)$$

Los coeficientes Wavelet $W(u, s)$ dependen de los valores de $f(t)$ y $\hat{f}(\omega)$ en el plano tiempo – frecuencia donde se concentra la energía de $\psi_{u,s}$ y $\hat{\psi}_{u,s}$. En el tiempo, $\psi_{u,s}$ se centra en u con una extensión proporcional a s . Su transformada de Fourier puede calcularse como

$$\hat{\psi}_{u,s}(\omega) = e^{-in\omega} \sqrt{s} \hat{\psi}(s\omega) \quad (28)$$

donde $\hat{\psi}$ es la transformada de Fourier de ψ . Para analizar la información de fase se emplea la función Wavelet analítica compleja. Esto significa que $\hat{\psi}(\omega) = 0$ para $\omega < 0$. Su energía se concentra en un intervalo de frecuencia positivo centrado en η . La energía de $\hat{\psi}_{u,s}(\omega)$ se concentra, por tanto, sobre un intervalo de frecuencia positivo centrado en η/s , cuyo tamaño es escalado por $1/s$. En el plano de frecuencia y tiempo, una función wavelet $\psi_{u,s}$ se representa simbólicamente por un rectángulo centrado en $(u, \eta/s)$. La extensión de tiempo y frecuencia son proporcionales a s y $1/s$, respectivamente. Cuando s varía, la altura y el ancho del rectángulo cambia pero su área permanece constante (Fig. 15)

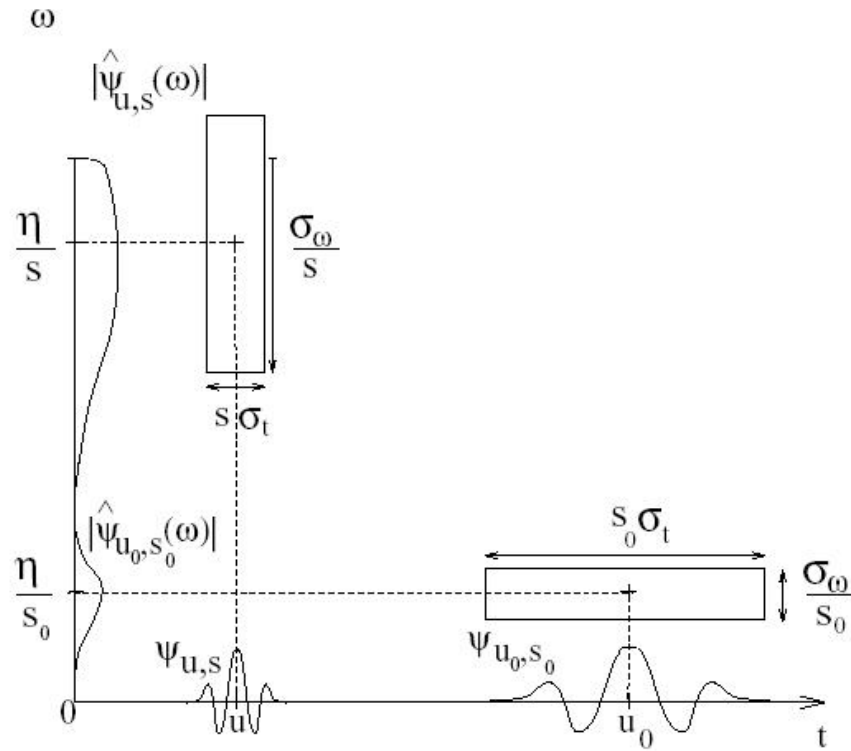


Figura 15. Cuadros en tiempo-frecuencia de dos funciones wavelet $\psi_{u,s}$ y ψ_{u_0,s_0} . Cuando la escala s decrece, el tiempo se reduce. Sin embargo la extensión de frecuencia se incrementa y cubre un intervalo que se desplaza hasta frecuencias altas.

El primer paso que debe darse es elegir una Wavelet madre que servirá como prototipo para todas las ventanas que se emplean en el proceso. Existe una importante cantidad de familias de funciones wavelet entre las que destacan: Haar, Daubechies, Biortogonal, Coiflets, Symlets, Morlet, Sombrero mexicano y Meyer, entre otras.

Para apoyar la decisión sobre la elección de la función Wavelet pueden considerarse diferentes factores:

1. *Ortogonal o no-ortogonal.* En el análisis Wavelet ortogonal, el número de convoluciones en cada escala es proporcional al ancho de la base Wavelet en esa escala. Esto produce un espectro Wavelet que contiene bloques discretos de potencias Wavelet, siendo útil para el procesamiento de señales ya que proporciona una representación más compacta de la señal. Desafortunadamente para el análisis de series temporales, un cambio aperiódico en la serie temporal produce un

espectro wavelet diferente. El análisis no ortogonal es altamente redundante a largas escalas, donde el espectro Wavelet en tiempos adyacentes está muy correlacionado. La transformación no ortogonal es útil en el análisis de series temporales se espera que la amplitud Wavelet sea suave y con variaciones continuas.

2. *Compleja o real.* Una función Wavelet compleja devuelve información acerca de la amplitud y la fase y tiene una mayor adaptación para captar el comportamiento oscilatorio. Una función Wavelet real devuelve solamente una componente, y puede ser usada para el análisis de picos aislados o discontinuidades.
3. *Ancho.* El ancho de una función Wavelet se define como el tiempo *e-folding* (la escala donde la amplitud se disminuye un factor e) de la amplitud Wavelet. La resolución de una función wavelet está determinada por el balance entre el ancho en el espacio real y el ancho en el espacio de Fourier. Una función estrecha en tiempo tiene una buena resolución en tiempo pero pobre en frecuencias, mientras que una función ancha en tiempo tendrá pobre resolución en tiempo y buena resolución en frecuencia. El límite se consigue con senos y el análisis de Fourier.
4. *Forma.* La función wavelet debe reflejar el tipo de características presentes en la serie temporal. Para series temporales con saltos agudos o pasos, uno debería elegir una función tipo boxcar tal como Haar. Mientras que para series temporales que varían suavemente uno debería elegir funciones suaves.

La tabla 1 y la figura 16 muestran las funciones no ortogonales más usadas. Las wavelets Morlet y Paul son complejas, mientras que las DOGs son reales. $H(\omega)$ es la función salto Heaviside definida como

$$H(\omega) = \begin{cases} 1 & \text{if } \omega > 0 \\ 0 & \text{en otro caso} \end{cases} \quad (29)$$

DOG es la derivada de una Gaussiana, donde para $m = 2$ se obtiene la wavelet Harr o sombrero Mexicano.

Función	$\psi(\eta)$	$\hat{\psi}(s\omega)$	τ_s	Periodo de Fourier, λ
			COI	
Morlet	$\pi^{-1/4} e^{i\omega_0 t} e^{-\eta^2/2}$ (ω_0 frecuencia)	$\pi^{-1/4} H(\omega) e^{-(s\omega - \omega_0)^2/2}$	$\sqrt{2}s$	$\frac{4\pi s}{\omega_0 + \sqrt{2 + \omega_0^2}}$
Paul	$\frac{2^m i^m m!}{\sqrt{\pi(2m)!}} (1 - i\eta)^{-(m+1)}$ (m = orden)	$\frac{2^m}{\sqrt{m(2m-1)!}} H(\omega) (s\omega)^m e^{-s\omega}$	$s/\sqrt{2}$	$\frac{4\pi s}{2m+1}$
DOG	$\frac{(-1)^m}{\sqrt{\Gamma(m+1/2)}} \frac{d^m}{d\eta^m} (e^{-\eta^2/2})$ (m = derivada)	$\frac{-i^m}{\sqrt{\Gamma(m+1/2)}} (s\omega)^m (e^{-(s\omega)^2/2})$	$\sqrt{2}s$	$\frac{2\pi s}{\sqrt{m+1/2}}$

Tabla 1: Funciones wavelet no-ortogonales más comunes

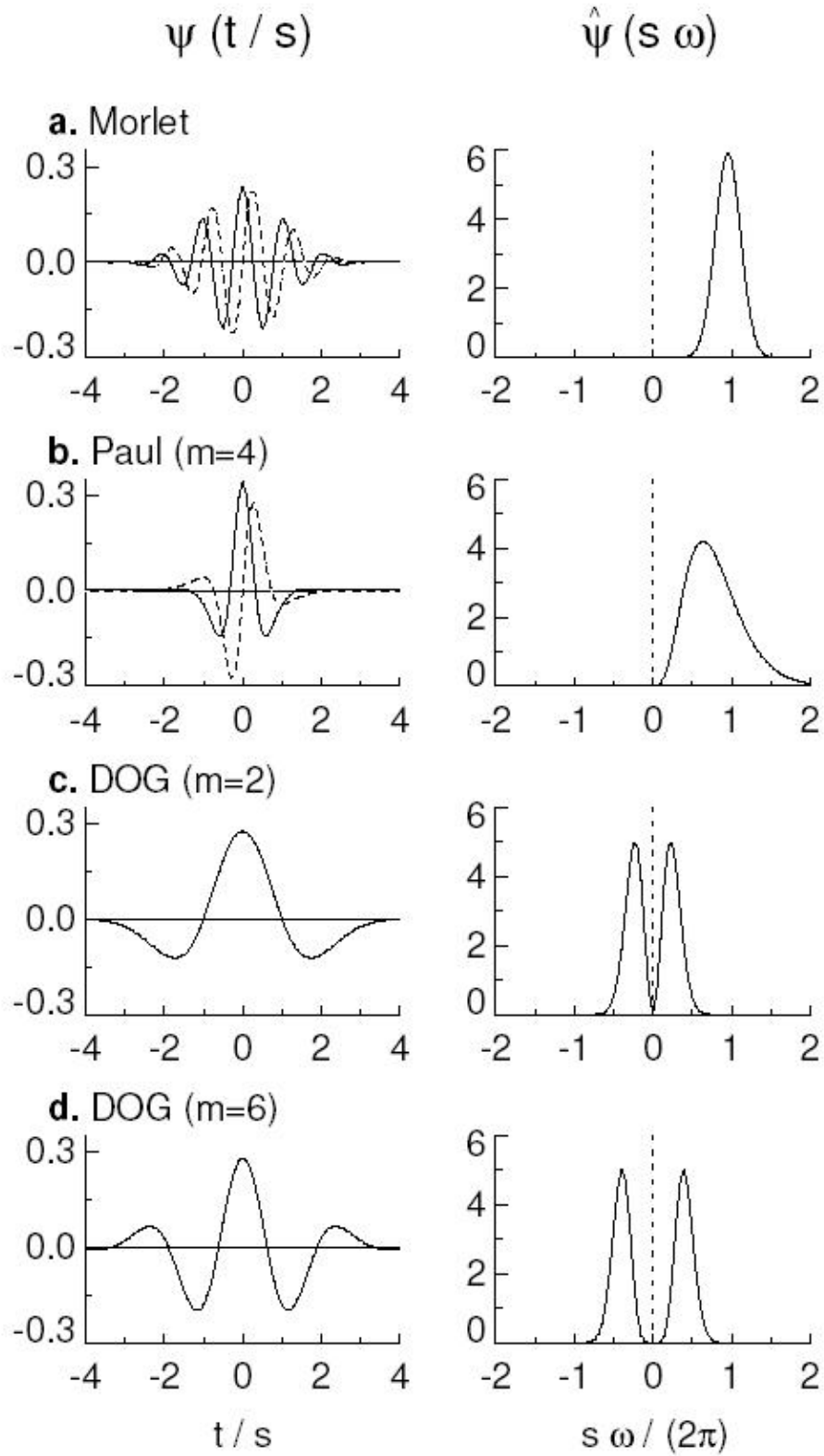


Figura 16: Funciones wavelet descritas en la Tabla 1. Las gráficas de la izquierda representan la parte real (en línea sólida) y la imaginaria (discontinua) de las funciones en el dominio de tiempo. Las gráficas de la derecha representan las funciones correspondientes en el dominio de frecuencias.

Para estudiar componentes rítmicas se suele emplear la función wavelet Morlet, que es la función usada en este trabajo,

$$\psi(t) = e^{i2\pi t} e^{-t^2/2k_0^2} \quad (30)$$

donde k_0 es un parámetro que debe ser elegido según el fenómeno físico que se estudie. Dada una escala temporal, s , la resolución de esta wavelet en los dominios de tiempo y frecuencia está dada por.

$$\delta t = ck_0 p, \quad \delta \omega = \frac{c}{k_0 p} \quad (31)$$

donde c es una constante de orden de la unidad. Existe un balance entre la resolución temporal y de frecuencia. Valores bajos de k_0 proporcionan una buena resolución temporal, mientras que valores altos de k_0 incrementan la resolución en frecuencias. El valor más comúnmente adoptado es $k_0 = 1$, y el límite $k_0 \rightarrow \infty$ corresponde a la transformada de Fourier. En este trabajo hemos usado el valor $k_0 = 2$, por motivos que detallamos posteriormente.

Cono de influencia (COI)

Debido a que trabajamos con series temporales de duración finita, se podría cometer error tanto al principio como al final del espectro de potencias wavelet. Una opción es rellenar con ceros los extremos de la serie antes de realizar el análisis wavelet y después cortar dichos segmentos para la interpretación de los resultados. Rellenar con ceros, sin embargo, introduce discontinuidades en la vecindad de los extremos. El cono de influencia (COI, de sus siglas en inglés cone of influence) es la región del espectro wavelet en la cual los efectos de borde se hacen más importantes. COI suele definirse como el tiempo *e-folding* para la correlación de la potencia wavelet a cada escala (en la Tabla 1 se muestran estos valores para las funciones wavelet más usadas). El tiempo *e-folding* se elige de tal forma que la potencia wavelet para una discontinuidad en el extremo decaiga un factor e^2 , lo que nos da $u = \sqrt{2}k_0 s$ para Morlet. En este trabajo hemos usado $k_0 = 2$ por lo que tenemos $u = \sqrt{2}s$, como muestra la cuarta columna de la tabla 1 para la función Morlet. De tal forma nos

aseguramos que los efectos de borde son insignificantes fuera de este punto (Torrence y Compo, 1998). El tamaño del COI a cada escala da una medida del tiempo de decorrelación para un evento de disparo en la serie temporal. Comparando el ancho de un pico en el espectro de potencias wavelet con este tiempo de decorrelación, se puede distinguir entre un disparo en los datos (posiblemente debido a ruido) de una componente armónica a la equivalente a la frecuencia de Fourier.

Espectro global de potencias wavelet y coherencia de un tren de disparos neuronal

El tren de disparos de una neurona (proceso puntual) puede representarse como una serie de funciones delta, δ , en los tiempos de ocurrencia de cada potencial de acción

$$x(t) = \sum_i \delta(t - t_i) \quad (32)$$

Esta representación nos permite calcular analíticamente los coeficientes wavelet

$$W(u, s) = \frac{1}{\sqrt{s}} \sum_i \exp(-i2\pi(t_i - u)/s) \exp(-(t_i - u)^2 / 2k_0^2 s^2) \quad (33)$$

Usando esta transformada wavelet se puede realizar un análisis en tiempo y frecuencia de las componentes rítmicas ocultas en el tren de disparo. Los coeficientes wavelet pueden ser considerados como una función parametrizada $W_p(u)$, donde u juega el papel de tiempo.

La representación espectral de un tren de disparos puede obtenerse generalmente por la transformada de Fourier. Sin embargo, se conoce que tal transformación tiene dificultades cuando se tratan procesos puntuales (Brilinger, 1978). Para solventar algunos de los problemas mencionados, se ha propuesto la transformada de Fourier multi-taper, como hemos descrito anteriormente. Aunque la transformada multi-taper generalmente proporciona una buena estimación del espectro de potencia, en el caso de trenes de disparos periódicos (como, por ejemplo, en condiciones experimentales de estimulación periódica) podría cometer errores al representar la densidad espectral. La transformada de wavelet puede ser usada como un método

alternativo del análisis espectral. El espectro de potencias wavelet de un tren de disparos puede definirse como:

$$E(u, s) = \frac{1}{\sqrt{\pi r k_0}} |W(u, s)|^2 \quad (34)$$

donde r es la tasa de disparo media. El factor de normalización asegura la unidad de energía del “ruido” blanco del tren de disparo con intervalos entre espigas distribuidos equiprobablemente. De esta forma la energía de un tren de disparos aleatorio se distribuye homogéneamente sobre todas las escalas $\langle E(s) \rangle_u = 1$. Consecuentemente, se cuantifica la distribución de potencias del tren en unidades de la potencia de un tren de disparos estocástico con la misma tasa de disparo.

El espectro wavelet global puede obtenerse promediando en el tiempo el espectro local (dependiente del tiempo):

$$E_G(s) = \frac{1}{T} \int_0^T E(u, s) du \quad (35)$$

donde T es la duración en tiempo del tren de disparos. El espectro global proporciona una estimación no sesgada y consistente del espectro de potencia real (Percival, 1995).

Coherencia wavelet

Tratando con dos trenes de disparos N y M , y de forma análoga al espectro – cruzado de Fourier podemos introducir el espectro – cruzado wavelet

$$W_{N,M}(u, s) = W_N W_M^* / k_0 \sqrt{\pi r_N r_M} \quad (36)$$

Por tanto, la coherencia wavelet entre dos trenes de disparos es una medida de asociación normalizada (Grinsted *et al.*, 2004):

$$C_{N,M}(u, s) = \frac{|S(W_{N,M}(u, s) / s)|^2}{S(E_N(u, s) / s) S(E_M(u, s) / s)} \quad (37)$$

donde S es un operador para suavizar la función (Torrence y Webster, 1998; Grinsted *et al.*, 2004). La coherencia puede dar, eventualmente, valores de coherencia artificialmente altos en el caso de espectros de potencia infinitesimalmente bajos para cualquiera o ambas señales, es decir $E(u, s) \approx 0$.

Para evitar este problema en los cálculos numéricos empleamos un

procedimiento de umbral, poniendo a cero aquellos valores de la coherencia que correspondan a valores de potencia por debajo de un umbral establecido. Dos trenes de disparo linealmente independientes tendrán un valor de la coherencia por debajo del nivel de significancia, mientras que $C(u, s) = 1$ indica una perfecta relación lineal entre los trenes de disparo a escala s y localización u .

Al igual que con los métodos desarrollados en el dominio de frecuencia aplicamos un test sobre datos barajados para evaluar el nivel de significación del 95%. Para realizar el test podemos generar pares de trenes de disparo barajados cuya estadística de primer orden no difiera a la de los trenes A y B, como hemos explicado anteriormente, permutando los intervalos entre espigas y manteniendo inalterado su histograma y la tasa de disparo del tren. Teniendo los trenes de disparo barajados podemos evaluar la coherencia wavelet para ellos y así encontrar el nivel de significación del 95%, $S^{95}(f)$. El procedimiento más simple para decidir sobre la significación de la coherencia es encontrar las “islas” que están por encima del nivel de significación, es decir encontrar el contorno que satisfaga:

$$W_{AB}^{95}(f, t) = W_{AB}(f, t) - S^{95}(f) > 0 \quad (38)$$

Ahora procedemos a evaluar diferentes propiedades de segundo orden, como la distribución media de las islas significantes sobre el rango de frecuencias, oscilaciones en tiempo de la coherencia en un cierto rango de frecuencia, etc. Sin embargo, aplicando este procedimiento a trenes generados aleatoriamente podemos observar regiones coherentes distribuidas en tiempo y frecuencia cuya significancia queremos estimar. Para solventar este problema proponemos usar el siguiente procedimiento:

- 1) Evaluar cuanto se eleva la coherencia wavelet de los trenes de disparo originales sobre el nivel de significación. Usando (38) tenemos

$$W_{AB}^{95}(f) = \langle W_{AB}^{95}(f, t) \rangle_{W>0} \quad \text{donde se toma el promedio sólo sobre los valores no negativos.}$$

- 2) Repetimos el mismo procedimiento para cada par de trenes barajados, por lo que tenemos $V_k^{95}(f) = \langle V_k^{95}(f, t) \rangle_{V>0}$, donde $V_k^{95}(f, t)$ es la elevación de la coherencia barajada para el par k sobre el nivel de

significación $S^{95}(f)$, similar a (38). Obtenemos así el valor medio sobre todos los pares barajados: $V^{95}(f) = \langle V_k^{95}(f) \rangle_k$

- 3) El valor de la coherencia significativa de los trenes A y B, $W_{AB}^{95}(f)$, por encima de $V^{95}(f)$ muestra el rango de frecuencias donde las neuronas exhiben acoplamiento.

Realizamos el mismo test de significancia estadística relativa a la hipótesis nula sobre la coherencia wavelet aplicando el método de datos barajados. En este caso las islas bordeadas marcan los intervalos en tiempo y frecuencia de valores de coherencia significativos (Fig. 17).

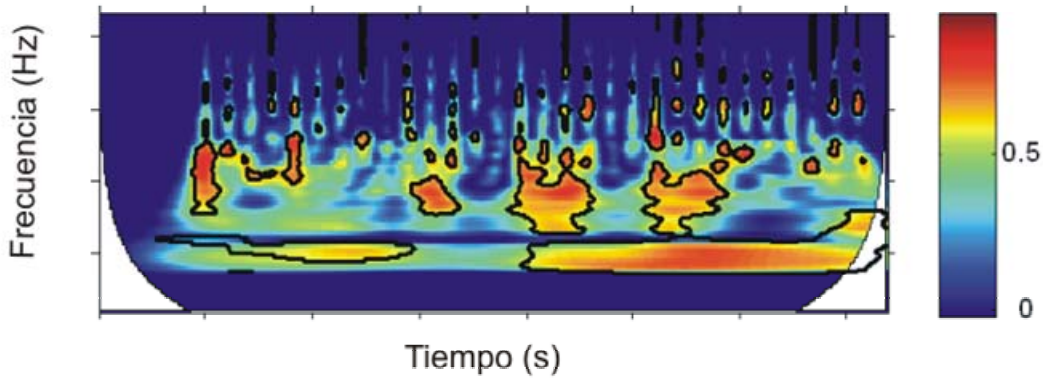


Figura 17: Representación bi-dimensional de la función de asociación determinada con la coherencia wavelet en el dominio de tiempo (eje x) y de frecuencia (eje y). La intensidad de color representa la fuerza de asociación entre los dos procesos. El cono de influencia delimita la región del espacio tiempo-frecuencia donde debe considerarse la coherencia libre de efectos de borde. Las líneas negras delimitan las “islas” de coherencia estadísticamente significativas.

Coherencia wavelet entre un tren de disparos neuronal y el tren de eventos de estimulación

Dado que uno de los objetivos de este trabajo es estudiar el nivel de coherencia (o acoplo funcional) entre los eventos de estimulación y la respuesta neuronal, centramos nuestra atención en la banda espectral correspondiente a la frecuencia de estimulación, por ejemplo para estimulación con la frecuencia $f = 1$ Hz, que corresponde a una escala de $s = 1$ para la

función wavelet elegida (Morlet). Para resolver adecuadamente el contenido en frecuencia inducido por el estímulo en la respuesta neuronal con una mínima pérdida en la resolución temporal elegimos el parámetro $k_0 = 2$, de forma que la resolución que tenemos en tiempo y frecuencia son: $\delta t \approx 2, \delta \omega \approx 1/2$.

La coherencia wavelet nos permite estudiar la estructura temporal y las variaciones del acoplo funcional entre el estímulo y la respuesta neuronal. Para cuantificar esta variación promediamos la coherencia disparos neuronales – estímulo sobre las escalas en una banda estrecha centrada en el periodo de estimulación, 1 segundo en este caso. Una estimación de los límites de dicha banda puede obtenerse a partir de la resolución, como:

$$p = \left[\left(1 + \frac{c}{2\pi k_0} \right)^{-1}, \left(1 - \frac{c}{2\pi k_0} \right)^{-1} \right] \quad (39)$$

de donde para $c = 2$ tenemos una banda de escalas de $[0.86, 1.2]$ s. Nos referiremos a esta banda de periodos como la banda de periodo (o frecuencia) de estimulación. De esta forma obtenemos como coherencia una función en el tiempo, $C(t)$. Dicha función puede ser usada para evaluar su espectro de potencias a partir de la transformada de Fourier convencional y estimar el posible comportamiento oscilatorio de la coherencia, ventaja que nos ofrece la transformada wavelet.

5.2 Reducción de la dimensión

El Análisis de Componentes Principales (PCA) y el Análisis Discriminante Lineal (LDA) son técnicas estadísticas de síntesis de la información, o reducción de la dimensión (número de variables). Es decir, ante una base de datos multi- variable, el objetivo es reducirla a un menor número de variables perdiendo la menor cantidad de información posible.

5.2.1 Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales (PCA) es una técnica que se utiliza para reducir la dimensionalidad de un conjunto de datos. Técnicamente, PCA busca la proyección del espacio original en la que los datos estén mejor

representados y suele usarse para determinar el número de factores que mejor explique la variabilidad de dichos datos.

El primer objetivo del análisis de componentes principales es construir una transformación lineal y crear un nuevo sistema de coordenadas para el conjunto original de datos, en el cual la varianza de mayor tamaño de los datos sea capturada por el primer eje (llamado el primer componente principal), la segunda varianza más grande el segundo eje, y así sucesivamente.

Supongamos que tenemos una muestra con n señales en las que se han medido m variables (aleatorias). PCA permite encontrar un número de factores subyacentes, $p < m$, que expliquen aproximadamente el valor de las m variables para cada señal. El hecho de que existan estos p factores subyacentes puede interpretarse como una reducción de la dimensionalidad de los datos: si antes necesitábamos m valores para caracterizar a cada señal ahora lo podemos hacer con p valores. Cada uno de los p encontrados se llama componente principal, de ahí el nombre del método.

Para construir esta transformación lineal debe construirse primero la matriz de covarianza o la matriz de coeficientes de correlación de las señales. El método basado en la matriz de covarianzas se usa cuando los datos son dimensionalmente homogéneos y presentan valores medios similares. Sin embargo, el método basado en la matriz de correlación se emplea cuando los datos no son dimensionalmente homogéneos o el orden de magnitud de las variables aleatorias medidas no es el mismo. En este trabajo hemos usado la matriz de correlación dada por:

$$r_{ij} = \frac{\text{cov}(x_i, x_j)}{\sqrt{\text{var}(x_i) \text{var}(x_j)}} \quad (40)$$

Debido a la simetría de esta matriz existe una base completa de vectores propios de la misma, sus autovectores. La transformación que lleva de las antiguas coordenadas a las coordenadas de la nueva base es precisamente la transformación lineal necesaria para reducir la dimensionalidad de datos. Además las coordenadas en la nueva base dan la composición en factores subyacentes de los datos iniciales.

Si las variables originales están descorreladas desde un principio, entonces no es necesario realizar un análisis de componentes principales. El análisis de componentes principales es una técnica matemática que no requiere la suposición de normalidad multivariante de los datos, aunque si esto último se cumple se puede dar una interpretación más profunda de dichos componentes.

Se considera una serie de variables $\{x_1(t), x_2(t), \dots, x_m(t)\}$, m señales registradas y se trata de calcular, a partir de ellas, un nuevo conjunto de variables $\{y_1(t), y_2(t), \dots, y_m(t)\}$ descorrelacionadas entre sí, cuyas varianzas vayan decreciendo progresivamente. Cada y_j (donde $j = 1, \dots, m$) es una combinación lineal de las $x_1(t), x_2(t), \dots, x_m(t)$ originales, es decir:

$$y_j = a_{j1}x_1 + a_{j2}x_2 + \dots + a_{jm}x_m = a_j'x \quad (41)$$

siendo $a_j' = (a_{j1}, a_{j2}, \dots, a_{jm})$ un vector de constantes que representa los pesos de cada variable en cada componente. Pretendemos maximizar la varianza, así una forma podría ser aumentar los coeficientes a_{ij} . Sin embargo, para mantener la ortogonalidad de la transformación se impone que el módulo del vector a_j' sea 1. El primer componente se calcula eligiendo a_1 de modo que y_1 tenga la mayor varianza posible, sujeta a la restricción del módulo unidad. El segundo componente principal se calcula obteniendo a_2 de modo que la variable obtenida, y_2 esté descorrelada con y_1 . Del mismo modo se eligen $y_1(t), y_2(t), \dots, y_m(t)$, descorrelados entre sí, de manera que las variables aleatorias obtenidas vayan teniendo cada vez menor varianza. Es decir, las p componentes y se pueden expresar como el producto de una matriz formada por los autovectores, multiplicada por el vector x que contiene las variables originales $x_1(t), x_2(t), \dots, x_m(t)$ tal que $y = Ax$.

Puesto que la matriz de correlación es simétrica puede diagonalizarse, tal que sus valores propios, λ_i , verifican $\sum_{i=1}^m \lambda_i = 1$. De esta forma la matriz de covarianza de y , $\Lambda = Var(y)$, puede expresarse mediante una diagonalización como:

$$\Lambda = \begin{pmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \lambda_p \end{pmatrix} \quad (42)$$

donde $Var(y_1) = \lambda_1, Var(y_2) = \lambda_2, \dots, Var(y_p) = \lambda_p$.

La porción de varianza total que recoge cada componente será el porcentaje que presenta su valor propio frente al total: $\frac{\lambda_j}{\lambda_1 + \lambda_2 + \dots + \lambda_m} 100$. Pero como la varianza de cada variable estandarizada es 1, la varianza total será igual a m , con lo cual la expresión anterior queda: $\frac{\lambda_j}{m} 100$.

Una de las ventajas de PCA para reducir la dimensionalidad de un grupo de datos, es que retiene aquellas características del conjunto de datos que contribuyen más a su varianza, manteniendo un orden de bajo nivel de los componentes principales e ignorando los de alto nivel. El objetivo es que esos componentes de bajo orden a veces contienen el aspecto "más importante" de esa información, por ejemplo el ruido. Un aspecto clave en PCA es la interpretación de los factores, ya que ésta no viene dada a priori, sino que será deducida tras observar la relación de los factores con las variables iniciales (se estudia tanto el signo como la magnitud de las correlaciones). Esto no siempre es fácil, y será de vital importancia el conocimiento que el experto tenga sobre la materia de investigación.

Análisis estadístico de los LFP

El análisis de componentes principales ha sido utilizado en este trabajo para el análisis de los LFP (sección 6.3 de este trabajo). Identificamos y eliminamos cerca del 5% de los LFP debido a que se desviaban del perfil estándar de un LFP o aquellos sospechosos de ser artefactos. Para cada clase de estímulo testamos la hipótesis nula de que los LFP provocados por el estímulo durante la congelación del hemisferio contralateral no difieren de aquellos bajo las condiciones control y recuperación (cuando se descongela dicho hemisferio). Además testamos si los LFPs durante la recuperación difieren de los de control. Aplicamos un análisis multivariable para la varianza a través del cual el voltaje registrado por el electrodo en cada paso de tiempo se considera como una

variable independiente (respuesta) y los factores son las variables categóricas que expresan la condición experimental, es decir, control-congelación-recuperación. Este acercamiento produce muchas variables altamente correlacionadas (por ejemplo, 150 variables para un LFP de 150 ms muestreado a 1 KHz), cuyo número excede el número de observaciones (por ejemplo, 10 observaciones para las 10 presentaciones del estímulo S1). En este caso, el análisis multivariable clásico (MANOVA) no puede aplicarse directamente por lo que usamos un análisis multivariable de la varianza MANOVA 50-50 (Langsrud, 2002).

Este enfoque usa el análisis de componentes principales para proyectar los datos en un nuevo espacio definido por los ejes ortogonales que describan de forma más eficiente la variación en los datos. Esos ejes se ordenan de acuerdo a cuanta varianza de los datos originales contienen (Malinowski, 1991). La mayoría de las diferencias entre las observaciones en condiciones experimentales distintas (control-congelación-recuperación) se describe por las primeras componentes principales. En el caso más simple el siguiente paso sería usar unas pocas componentes principales, que expliquen por ejemplo al menos el 75% de la varianza de los datos, para un examen MANOVA ordinario. Sin embargo, Langsrud (2002) propuso otra estrategia para mejorar la potencia del test. Las primeras k componentes principales que explican el 50% de la variabilidad se usan para calcular el modelo de predicción y el error se evalúa sobre el último 25% de todas las componentes principales. Por tanto, el MANOVA clásico (test F con un nivel de significancia de $p = 0.05$) se aplica sobre la razón entre la media de las primeras 50% y las medias de las últimas 25% componentes principales.

En el caso del estímulo S1 teníamos 10x10 posiciones que analizar. Un indiscriminado uso del test estadístico podría proporcionarnos una incontrolable presencia de errores Tipo I (falsos positivos). Hemos abarcado este problema de comparación múltiple combinando el MANOVA 50-50 descrito anteriormente con el control de la tasa de falsos descubrimientos (Benjamini and Hochberg 1995).

Además de testar la hipótesis nula como ya hemos descrito, para todos los LFPs medimos las latencias, amplitud y duración de los picos del LFP. Estos valores han sido usados para la tasación estadística de 1) media y

desviación estándar de los picos del LFP, y 2) significancia de la diferencia en la amplitud del LFP entre control y congelación con ANOVA. Para hallar la latencia de un LFP usamos un método propuesto por Kaur *et al.* (2004). Primero se calcula el nivel control como la media del voltaje registrado por un electrodo durante los primeros 20 ms después del inicio del estímulo y que precede a la respuesta en el LFP. Definimos una línea umbral paralela a la control y otra por encima o debajo de esta, dependiendo de la polaridad del LFP considerado. Para evitar cruces de la línea umbral espurios debido a fluctuaciones de la señal elegimos primero un valor umbral conservador que para un LFP negativo está dado por $V_{umbral} = V_{control} - 3(V_{control} - V_{min})$, donde $V_{control}$ es el voltaje control y V_{min} es el voltaje mínimo evaluado sobre los primeros 20 ms después del inicio del estímulo. La fase inicial del LFP se aproxima por una línea recta que comienza en la línea control y tangente al LFP. Esta tangente se calcula ajustando una línea recta por 3 valores del LFP cercanos a la localización de la intersección del LFP con la línea umbral. La intersección de la línea ajustada con el control nos da una estimación robusta de la latencia.

5.2.2 Análisis discriminante lineal

Entre las técnicas de clasificación de datos más empleadas se encuentra además de PCA el análisis discriminante lineal (LDA). El objetivo de LDA es realizar una reducción de la dimensionalidad, preservando el máximo posible de información discriminatoria, de tal forma que pueda clasificar los datos como pertenecientes a una clase dada y proporcionar las características que definen cada clase y las que discriminan de las demás clases. LDA maximiza la relación entre la varianza entre clases respecto a la varianza dentro de una clase para un conjunto de datos en particular garantizando la máxima separación.

Supongamos que tenemos un conjunto de N vectores en D dimensiones, $\{x_1(t), x_2(t), \dots, x_N(t)\}$, entre los cuales N_1 son de clase ω_1 , y N_2 de clase ω_2 . Pretendemos obtener un escalar y proyectando los vectores x sobre una recta:

$$y = \omega^T x \quad (43)$$

De todas las posibles rectas, queremos seleccionar aquella que maximice la separabilidad de los escalares.

Para poder encontrar un buen vector de proyección, necesitaremos definir una medida de separación entre las proyecciones. El vector promedio de cada clase en los espacios x e y es:

$$\mu_i = \frac{1}{N_i} \sum_{x \in \omega_i} x \quad \tilde{\mu}_i = \frac{1}{N_i} \sum_{y \in \omega_i} y = \frac{1}{N_i} \sum_{y \in \omega_i} \omega^T x = \omega^T \mu_i \quad (44)$$

Podríamos entonces elegir nuestra función objetivo como la distancia entre los promedios proyectados:

$$J(\omega) = |\tilde{\mu}_1 - \tilde{\mu}_2| = |\omega^T (\mu_1 - \mu_2)| \quad (45)$$

Sin embargo, la distancia entre los promedios proyectados no es una buena medida ya que no tiene en cuenta la desviación estándar dentro de las clases (Fig. 18).

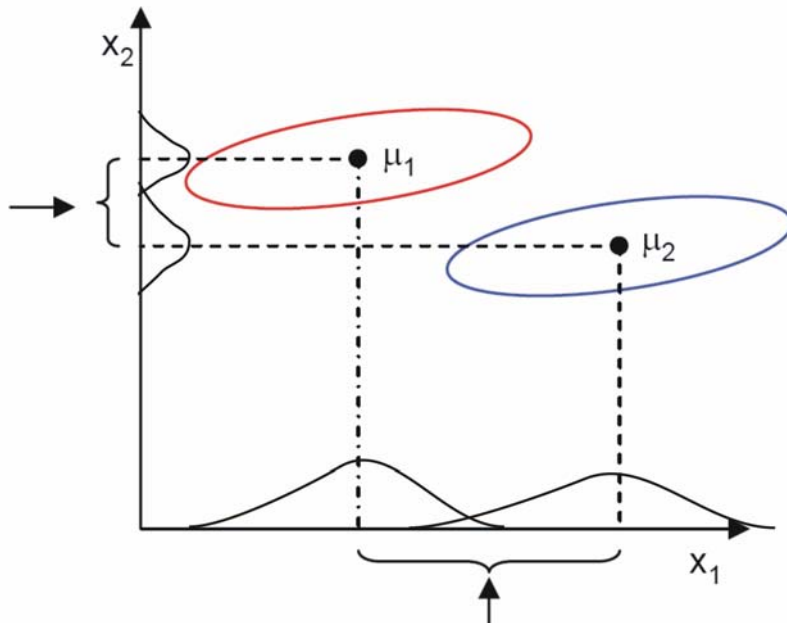


Figura 18: Ejemplo de clasificación de datos. En este caso el eje x_1 maximiza la distancia entre medias mientras la separación entre clases en el eje x_2 es mejor.

La solución propuesta por Fisher es maximizar una función que represente la diferencia entre las medias, normalizada por una medida de la dispersión dentro de las clases. Por cada clase definimos la dispersión, un equivalente a la varianza, como:

$$\tilde{S}_i^2 = \sum_{y \in \omega_i} (y - \tilde{\mu}_i)^2 \quad (46)$$

donde $\tilde{S}_1^2 + \tilde{S}_2^2$ es la “dispersión intra clase” de los ejemplos proyectados. El discriminante lineal de Fisher se define como la función lineal $\omega^T x$ que maximiza la función objetivo:

$$J(\omega) = \frac{|\tilde{\mu}_1 - \tilde{\mu}_2|^2}{\tilde{S}_1^2 + \tilde{S}_2^2} \quad (47)$$

De esta forma, estaremos buscando una proyección donde los ejemplos de la misma clase son proyectados muy cerca unos de otros, y al mismo tiempo, las medias proyectadas están lo más lejos posible (Fig. 19).

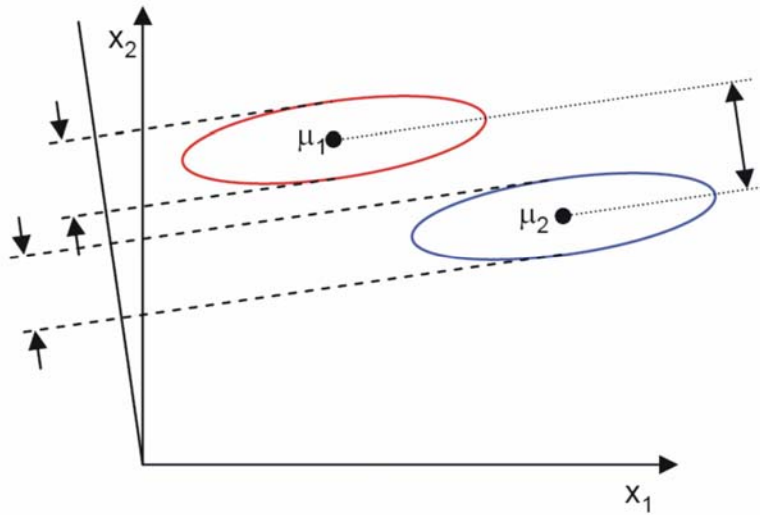


Figura 19: Nueva proyección que separa las medias de cada grupo.

Para poder encontrar la proyección óptima ω^* , necesitaremos expresar $J(\omega)$ como una función explícita de ω . Primero hay que definir las matrices de dispersión:

$$S_i = \sum_{x \in \omega_i} (x - \mu_i)(x - \mu_i)^T \quad (48)$$

$$S_1 + S_2 = S_\omega$$

donde S_ω es la llamada “matriz de dispersión intra clase”. La dispersión de la proyección y se puede expresar en función de la matriz de dispersión en el espacio x :

$$\begin{aligned}\tilde{S}_i^2 &= \sum_{y \in \omega i} (y - \tilde{\mu}_i)^2 = \sum_{y \in \omega i} \omega^T (x - \mu_i)(x - \mu_i)^T \omega = \omega^T S_i \omega \\ \tilde{S}_1^2 + \tilde{S}_2^2 &= \omega^T S_i \omega\end{aligned}\tag{49}$$

De manera similar, podemos expresar la diferencia entre los promedios proyectados en función de las medias en el espacio original x :

$$(\tilde{\mu}_1 - \tilde{\mu}_2)^2 = \omega^T (\mu_1 - \mu_2)(\mu_1 - \mu_2)^T \omega = \omega^T S_B \omega\tag{50}$$

donde S_B es la “matriz de dispersión interclase”. Como es el producto de dos vectores, tiene rango ≤ 1 . Con lo que hemos visto, podemos expresar $J(\omega)$ como una función explícita de ω :

$$J(\omega) = \frac{\omega^T S_B \omega}{\omega^T S_\omega \omega}\tag{51}$$

La maximización de $J(\omega)$ respecto a ω tiene una solución analítica sencilla:

$$\omega^* = \operatorname{argmax} \left\{ \frac{\omega^T S_B \omega}{\omega^T S_\omega \omega} \right\} = S_\omega^{-1} (\mu_1 - \mu_2)\tag{52}$$

donde el módulo de ω^* es indiferente. Esta solución se llama Discriminante Lineal de Fisher (1936), aunque en realidad no es un discriminante sino la elección de una dirección específica para la proyección de los datos a una dimensión.

El Discriminante de Fisher se puede generalizar a problemas con C clases (arbitrario). En vez de buscar una proyección y , buscamos (C-1) proyecciones $\{y_1(t), y_2(t), \dots, y_{C-1}(t)\}$ por medio de (C-1) vectores de proyección ω_i . Definimos por conveniencia la matriz de proyección ω con (C-1) columnas:

$$y_i = \omega_i^T x \rightarrow y = \omega^T x\tag{53}$$

Se puede demostrar analíticamente que la matriz óptima ω^* es la que en sus columnas contiene los (C-1) autovectores de la matriz $S_\omega^{-1} S_B$ correspondientes a los (C-1) autovalores más grandes:

$$\omega^* = \left[\omega_1^* \mid \omega_2^* \mid \dots \mid \omega_{C-1}^* \right] \operatorname{argmax} \left\{ \frac{\omega^T S_B \omega}{\omega^T S_\omega \omega} \right\} \rightarrow (S_B - \lambda_i S_\omega) \omega_i^* = 0\tag{54}$$

donde S_B es la suma de C matrices de orden 1 o menos, y los vectores media están restringidos por:

$$\frac{1}{C} \sum_{i=1}^C \mu_i = \mu \quad (55)$$

De esta forma, S_B es de rango menor o igual que $(C-1)$. Esto significa que hay como mucho $(C-1)$ autovalores λ_i que no son cero. LDA se puede también derivar del método de Máxima Verosimilitud para el caso en el que las densidades condicionadas a la clase son gaussianas con las mismas matrices de covarianza.

La principal diferencia entre LDA y PCA es que PCA clasifica los rasgos de los datos y LDA clasifica los datos. En PCA, la forma y localización del conjunto original de datos cambia cuando se transforman a un espacio diferente mientras que LDA no cambia la localización sino que intenta proporcionar una separabilidad de clase y perfilar la región entre las clases dadas.

5.3 Supresión de artefactos

Introducimos los métodos elegidos en este trabajo para la supresión de los artefactos en el EEG.

5.3.1 Análisis de componentes independientes

ICA es un procedimiento que está basado en tres suposiciones: (i) los datos experimentales son una combinación espacialmente estable de las actividades de fuentes cerebrales y artificiales temporalmente independientes, (ii) la superposición de los potenciales que surge desde diferentes partes del cerebro, cuero cabelludo y cuerpo es lineal en los electrodos, y los retrasos de propagación desde las fuentes a los electrodos son despreciables, y (iii) el número de fuentes no es mayor que el número de electrodos.

ICA comienza asumiendo que las K señales de EEG registradas simultáneamente $X(t) = \{X_1(t), X_1(t), \dots, X_K(t)\}$ son combinaciones lineales de N ($N \leq K$) componentes (fuentes) independientes a priori desconocidas

$S(t) = \{S_1(t), S_1(t), \dots, S_N(t)\}$, entre las que se encuentran componentes de origen neuronal y de origen artificial, tal que podemos expresarlas como:

$$X(t) = MS(t) \quad (56)$$

donde M es la matriz de combinación, desconocida, que define con qué peso está presente cada fuente en un EEG dado registrado en el cuero cabelludo. Estos pesos dibujan los mapas topográficos del cuero cabelludo de las componentes, que proporcionan una información adicional de la localización de las fuentes. El objetivo de ICA es estimar tanto $S(t)$ como M a partir de $X(t)$.

Hemos usado el algoritmo infomax propuesto por Bell y Sejnowski (1995) con las modificaciones posteriores que introdujeron Amari *et al.* (1996) y Lee *et al.* (1999). El algoritmo está implementado en el paquete de programas de MatLab EEG (Delorme y Makeig, 2004) disponible en <http://sccn.ucds.edu/eeglab> y que usa redes neuronales para maximizar la entropía conjunta y minimizar la información mutua entre las componentes de salida de un procesador neuronal. Hemos empleado otro algoritmo para testar el rendimiento de infomax, Fastica (Hyvärinen y Pajunen, 1999), disponible en <http://www.cis.hut.fi/projects/ica/fastica> y encontramos resultados muy similares.

Una vez que se ha aplicado el algoritmo que nos proporciona las componentes independientes, analizamos la estructura temporal y topográfica de las componentes $S(t)$ (por ejemplo, los artefactos oculares proyectan principalmente sobre las posiciones frontales) e identificamos entre ellos aquellas componentes responsables del artefacto. Dichas componentes se anulan, $S_{\text{artefacto}}(t) = 0$, obteniendo una matriz de componentes, $\hat{S}(t)$ donde las fuentes artificiales han sido suprimidas. Finalmente, reconstruimos las señales de EEG corregidas por ICA, como:

$$\hat{X}(t) = M\hat{S}(t) \quad (57)$$

De esta forma obtenemos señales $\hat{X}(t)$ que representa la estimación ICA de los datos originales libres de artefacto.

5.3.2 Análisis de componentes independientes filtradas wavelet, wICA

Introducimos el método que proponemos y que emplea la transformada wavelet para mejorar el rendimiento de ICA como método de supresión de artefactos. Cuando tratamos con EEGs reales, las componentes independientes estimadas por ICA capturan las fuentes artificiales, sobre todo aquellos artefactos fuertemente presentes en el EEG, pero con frecuencia esas componentes contienen una considerable cantidad de actividad cerebral. Esto puede ocurrir, por ejemplo debido a la limitación sobre el número máximo de fuentes independientes, o por restricción sobre la independencia temporal o una aplicación sub-óptima del algoritmo (Jung *et al.*, 2000a; Brown *et al.*, 2001). La supresión de tales componentes supone por tanto la pérdida de una parte de la actividad cerebral y, consecuentemente, la distorsión del EEG libre de artefactos (Friston, 1998).

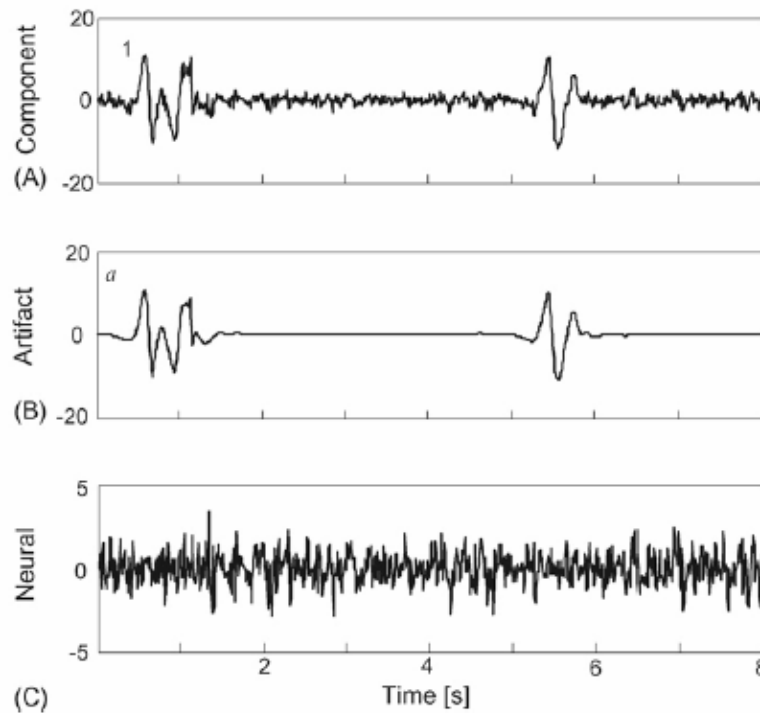


Figura 20: Descomposición de la componente independiente asociada como responsable del artefacto en sus partes de origen neuronal y artificial. A) La componente independiente estimada por ICA tiene dos episodios de parpadeo (alrededor de 0.8 y 5.5 s). B) Fuente de artefacto presente en la componente. C) Señal subyacente de origen neuronal “colada” en la componente independiente.

La figura 20A ilustra la primera componente independiente, $S_1(t)$, estimada por ICA e identificada como responsable del artefacto de parpadeo. Tenemos dos episodios de artefacto [0.5-1.5] y [5-6] s. De acuerdo con las

suposiciones de ICA esta componente no puede incluir otro tipo de artefacto independiente del ocular. La componente puede dividirse en una componente de artefacto de alta amplitud, $a(t)$ (Fig. 20B) y una señal neuronal residual de baja amplitud, $n(t)$ (Fig. 20C):

$$S_1(t) = a(t) + n(t) \quad (58)$$

Notar que el artefacto ocular se anula fuera de los episodios de parpadeo (Fig. 20B), sin embargo, la componente tiene una considerable cantidad de señal neuronal que persiste en esta región (Fig. 20A y C). Según el procedimiento convencional de ICA la componente entera se anula, $S_1(t) = 0$, antes de la recomposición de la señal (56). Por tanto, la señal corregida por ICA pierde una parte de la actividad cerebral

$$\hat{X}_j(t) = r_j(t) - m_{j1}n(t) \quad (59)$$

donde $r_j(t) = X_j(t) - m_{j1}a(t)$ es la señal libre de artefactos registrada en el electrodo j y m_{j1} es el correspondiente peso en la matriz de combinación, M .

Estimar la señal neuronal persistente, $n(t)$, supondría poder sustraerla de la componente y así corregir la reconstrucción de ICA del registro de EEG libre de artefacto. A priori, como sucede en ICA, la descomposición (53) de las componentes independientes en actividad neuronal y artificial es desconocida. Sin embargo, usando las propiedades de las señales $a(t)$ y $n(t)$ podemos estimarlas. De hecho, el artefacto, $a(t)$, tiene alta magnitud (potencia) y está localizado en el dominio de tiempo y/o frecuencia, mientras que $n(t)$ tiene baja amplitud y una banda de espectro ancha (Fig 20B y C). Estas propiedades se ajustan bien a las posibilidades que ofrece la descomposición wavelet, que proporciona una buena resolución tanto en los dominios de tiempo como de frecuencia sin requerir que la señal sea estacionaria. La transformada wavelet de una componente independiente por ejemplo $S_1(t)$ viene dada por:

$$W^s(d, b) = \frac{1}{\sqrt{d}} \int S_1(t) \psi_{d,b}(t) dt, \quad \psi_{d,b} = \psi\left(\frac{t-b}{d}\right) \quad (60)$$

donde $W^s(d, b)$ es la representación wavelet de $S_1(t)$, ψ es la función madre y b y d definen la localización temporal y la escala. La transformada WT es

redundante y por tanto en la práctica se suele usar su correspondiente discreta (DWT). En la DWT las escalas de tiempo y localización toman solo valores fijos, normalmente $d = 2^j$, $b = k2^j$ con j y k enteros que desempeñan el papel de nivel de descomposición y localización temporal a ese nivel, respectivamente. Usando las ecuaciones (58) y (60) podemos escribir:

$$W^s(d,b) = W^a(d,b) + W^n(d,b) \quad (61)$$

donde $W^a(d,b)$ y $W^n(d,b)$ son los coeficientes wavelet obtenidos por la transformación (61) de las partes artificiales y neuronales de la componente, respectivamente. Como hemos mencionado los coeficientes correspondientes a los artefactos tendrán alta amplitud y una buena localización en tiempo y escala, mientras que los coeficientes de la parte neuronal estarán distribuidos a lo largo de todas las escalas, y tendremos un espectro ancho de baja energía. Para ilustrarlo aplicamos (61) a las tres señales mostradas en la figura 20.

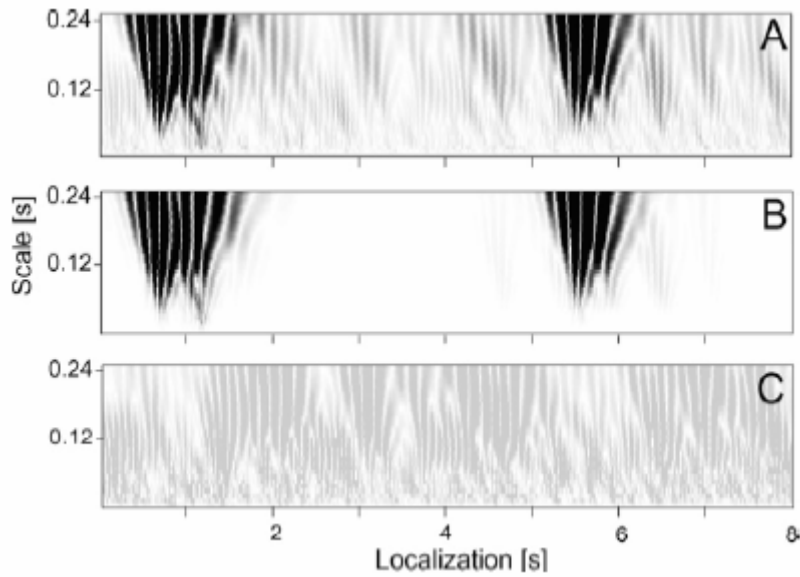


Figura 21: Representación wavelet de la componente independiente $S_1(t)$. A) y sus partes de origen artificial $a(t)$, B) y neuronal $n(t)$. C). La intensidad de gris codifica el valor absoluto de los coeficientes wavelet. Los datos corresponden a las trazas mostradas en la figura anterior.

La figura 21 muestra la componente independiente y sus partes artificiales y neuronales en el espacio wavelet. De hecho, la componente artificial, $a(t)$ tiene coeficientes wavelet de alta amplitud (Fig. 21B) localizados

en las ventanas de tiempo de los episodios de parpadeos (ver también fig. 20) y en escalas largas. La parte neuronal, $n(t)$, es pequeña y distribuida homogéneamente sobre todo el espectro de escalas y localizaciones temporales. De acuerdo a ello, el procedimiento de descomposición (5) puede describirse como un proceso de umbral: todos los coeficientes wavelet por encima de un cierto umbral se suprimen, y por tanto la estructura resultante se usa para la transformación inversa wavelet. Notar que el procedimiento de umbral solo puede ser realizado con la DWT, de donde junto a (61) obtenemos la separación de los coeficientes wavelet en “artificiales” y “neuronales”, es decir si $W^a(j,k)=0$ entonces $W^n(j,k) \neq 0$ y viceversa. El procedimiento descrito es muy similar a la técnica de supresión del ruido propuesta por Donoho et al. (1995) pero aquí el objetivo es el contrario: separar la señal útil de baja amplitud y ancho espectro de los fuertes artefactos y suprimir los últimos. Finalmente el algoritmo de ICA mejorado con wavelet (wICA) para la supresión de artefactos en el EEG se compone de los siguientes pasos:

- (1) Aplicar la descomposición convencional de ICA a los EEG crudos, obteniéndose así la matriz de combinación M y las k componentes independientes $\{S_1(t), S_2(t), \dots, S_K(t)\}$
- (2) Calcular la transformada wavelet de las componentes obteniendo sus representaciones $\{W(j,k)\}_{S_i}$
- (3) Aplicar un proceso de umbral a los coeficientes wavelet, es decir $W(j,k)=0$ para aquellos que sobrepasen un cierto umbral, $|W(j,k)| > K$.
- (4) Calcular la transformada inversa wavelet de los coeficientes que no superen el umbral, $W(j,k)$, recomponiendo así únicamente las componentes que contienen fuentes de origen neuronal, $\{n_i(t)\}$.
- (5) Componer la señal EEG corregida por wICA: $\hat{X}(t) = M \cdot [n_1(t), n_2(t), \dots, n_N(t)]^T$

La selección del valor umbral, K , es un elemento esencial del algoritmo. Hemos usado $K = \sqrt{2 \log N} \sigma$, donde N es la longitud del segmento de datos que procesamos, y $\sigma^2 = \langle |W(d,b)| \rangle / 0.6745$ es el estimador de la magnitud del

ancho de banda de la parte neuronal de la señal. Este valor permite un buen rendimiento del procedimiento para los artefactos oculares y de pulso cardiaco. Pueden aplicarse otras estrategias de umbral que proporcionen un mejor ajuste del algoritmo a ciertas peculiaridades de algunos artefactos o EEGs (ver una revisión en por ejemplo, Debnath, 2002). Hacemos notar que el algoritmo es completamente automático, ya que no se requiere de una inspección visual laboriosa de las componentes independientes seguida de la selección de aquellas responsables del artefacto. Las componentes que no tengan artefactos de alta amplitud pasan por el procedimiento de umbral (pasos 2-4) quedando intactas ($n_k(t) = S_k(t)$). Esto permite una aplicación automática del algoritmo, siendo su paso más crucial el paso 1, que debe aplicarse a épocas relativamente cortas (10 segundos) contiguas según sugieren Jung *et al.* (2000a).

RESULTADOS

6. Resultados

6.1 Evaluación de los métodos de determinación conectividad funcional para trenes de disparos

Hasta ahora los métodos para inferir en el patrón de conectividad se han desarrollado o bien en el dominio de tiempo o en el de frecuencia. Los métodos en el dominio de tiempo aunque ampliamente usados presentan serias limitaciones por lo que hemos optado por estudiar en más detalle las técnicas espectrales. La evaluación del rendimiento de los métodos ha sido publicada en la literatura exclusivamente para series temporales, probándose su utilidad en este campo. Nuestro primer objetivo ha sido la evaluación del rendimiento de los métodos en su aplicación a trenes de disparos.

Para dicho propósito generamos artificialmente trenes de disparo cuyas características conocemos previamente, ya que el conocimiento de todas las propiedades de la red (principalmente el patrón de conectividad) nos permite cualificar los resultados de identificación. Para generar trenes de disparos artificiales consideramos redes neuronales compuestas por neuronas que siguen el modelo de Integración y disparo (IF) (Lapicque, 1907 y Gerstner, 2002).

Con el propósito de evaluar los métodos expuestos elegimos tres arquitecturas de red compuestas de tres neuronas (Fig.22). En la primera red las neuronas están acopladas en cadena, la segunda red presenta un bucle excitación-inhibición, y finalmente la tercera red ilustra el caso de una neurona que sinápta a otras dos (entrada común).

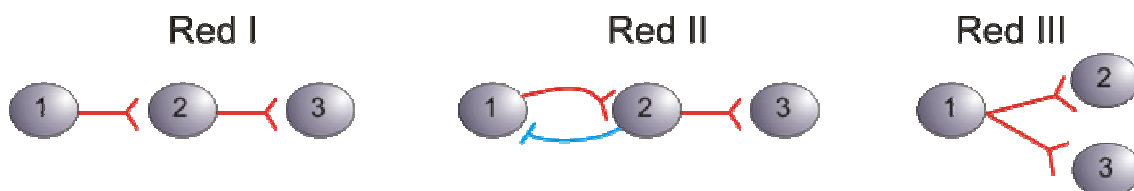


Figura 22: Redes propuestas para el estudio que incluyen conexión mediada por otra neurona, bucle excitación-inhibición y conexión común.

Con ello, cubrimos los patrones de conectividad mas críticos: conexión unidireccional, bucle excitación-inhibición, entrada común y conexión indirecta

(vía otras neurona). Las frecuencias de disparo de las neuronas son 5, 7 y 3 Hz para las neuronas denotadas como 1, 2 y 3 respectivamente y el nivel de ruido elegido es 0.3 (suficiente para que las neuronas no presenten un comportamiento rítmico pero que tengan cierta regularidad en la actividad de disparo). Los valores de la fuerza de acoplo son aproximadamente del 20 % del umbral de disparo. Este acoplo es suficiente para que las neuronas notifiquen la presencia de una entrada en su voltaje pero no demasiado alto para hacerlas disparar inmediatamente tras recibir una entrada excitadora. De acuerdo con esto, las neuronas de la red no están completamente sincronizadas sin embargo una conexión excitadora (inhibitoria) incrementa (disminuye) la frecuencia de disparo respecto a la intrínseca, es decir la debida a las propiedades intrínsecas de la neurona aislada. La escala en la transmisión sináptica es de 20 ms. Los métodos elegidos para su evaluación son la correlación cruzada, en el dominio de tiempo, y en el de frecuencia la coherencia espectral parcial y los métodos basados en la causalidad de Granger DTF y PDC.

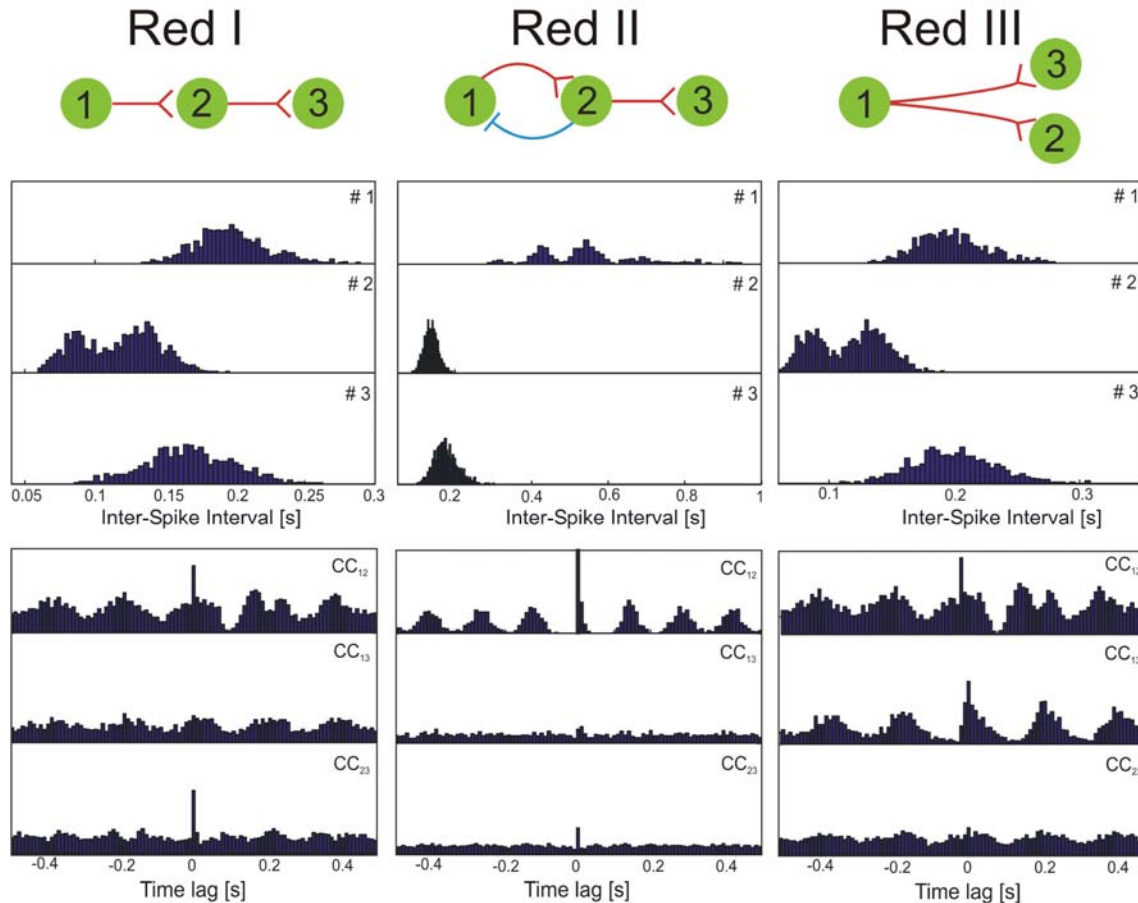


Figura 23. Ilustración esquemática de las tres redes usadas para evaluar los métodos. Se presentan los histogramas de ISI y correlaciones cruzadas correspondientes a las redes de tres neuronas.

Cuando se analizan trenes de disparos neuronales surgen dos cuestiones: 1) ¿Cual es la cantidad de datos mínima y óptima necesaria para aplicar cada uno de los métodos? Y 2) ¿Que método tiene mayor rendimiento (comete el menor numero de errores al determinar la estructura de la red) bajo ciertas condiciones experimentales? Para contestar a dichas cuestiones evaluamos el rendimiento de los métodos en función de la duración del registro (numero de disparos) y en función de las propiedades intrínsecas de las neuronas, como la frecuencia de disparo y el comportamiento oscilatorio con las tres redes expuestas anteriormente.

Como medida del rendimiento de los métodos proponemos la relación (porcentaje) de conexiones mal identificadas sobre las posibles conexiones. En la definición de rendimiento debemos tener en cuenta la información que proporciona cada método. PSC detecta sólo interacciones unidireccionales entre pares de neuronas, por tanto en una red de N neuronas es capaz de detectar $N(N-1)/2$ conexiones mientras que DTF y PDC detectan también sinapsis mutua y por tanto el rendimiento debe evaluarse sobre las $N(N-1)$ posibles conexiones. Consecuentemente, normalizamos el número de inferencias falsas al máximo número de interacciones accesibles a cada método.

Realizamos dos experimentos. En primer lugar calculamos el porcentaje de inferencias estructurales falsas en función de la duración del registro para las tres redes. La duración va desde 5 segundos (donde en todos los casos el numero de disparos de cada neurona es inferior a 30) a 200 segundos (se superan los 1000 disparos por parte de cada neurona). En el segundo experimento evaluamos la influencia del carácter oscilatorio en los métodos de identificación. Debido a que el nivel de ruido es un indicador de dicho comportamiento en nuestro modelo neuronal, partimos de neuronas libres de ruido (nivel cero de ruido supone comportamiento absolutamente rítmico

(regular en el disparo) hasta neuronas con un alto nivel de ruido (en cuyo caso obtenemos un histograma de intervalos inter-disparo muy ancho, indicando el comportamiento no-oscilatorio de las neuronas aunque no estocástico). En este experimento el nivel de ruido de las tres neuronas es el mismo y varía en el rango $[0.001, 3]$. Hacemos notar que el nivel de ruido mínimo es 0.001 y no cero para evitar problemas de divergencia en los cálculos. La duración del registro es de 150 segundos y las frecuencias de disparo intrínsecas son las mismas que en el experimento anterior. Promediamos los resultados sobre 60 simulaciones Monte Carlo.

Los resultados de los experimentos se representan en dos conjuntos de gráficas para cada red. Por una parte representamos la curva correspondiente a la eficacia de los métodos en función del parámetro que varia (duración del registro y nivel de ruido). Para los métodos DTF y PDC representamos además la eficacia para cada sinapsis (entre cada par de neuronas) posible ya que estos métodos nos permiten conocer la dirección de la conexión. En rojo se representan las sinapsis existentes y en azul las ausentes. De tal forma que esperaríamos que las curvas rojas alcancen un valor de “1” (buena eficacia de los métodos) mientras que las curvas azules alcanzan el “0” (los métodos detectan la ausencia de conexión). Por tanto, fallo o éxito depende del color de la grafica. Estas figuras nos permiten saber en detalle en qué fallan los métodos.

Exponemos los resultados para cada red.

Red I

En esta red pretendemos captar el rendimiento de los métodos ante la presencia de una conexión indirecta, en este caso desde la neurona 1 a la 3. En el histograma de ISI (Fig. 23A, panel de la izquierda) podemos ver un pico principal indicando el periodo mas representativo de cada neurona. Debido a la conexión excitadora desde la neurona 1 a la 2 y desde la neurona 2 a la 3, el histograma ISI de las neuronas 2 y 3 aparece desplazado a la izquierda respecto a sus periodos intrínsecos (0.14 y 0.33 segundos, para las neuronas aisladas) indicando que su frecuencia ha disminuido. Como la neurona 1 no recibe ninguna entrada, el histograma ISI aparece centrado en 0.2 segundos (5

Hz). Su anchura se debe, al igual que en el resto de las neuronas a la presencia de ruido en su corriente interna lo que hace que su actividad de disparo no sea absolutamente regular. La frecuencia de disparo de la neurona 1 es menor que la de la neurona 2 (5 y 7 Hz), esto conlleva la existencia de dos picos en el histograma ISI de la neurona 2: uno corresponde al intervalo entre disparos cuando se ha recibido una entrada por parte de la neurona 1 (la pre-sináptica) y el otro al intervalo donde no se ha recibido ninguna entrada por parte de la neurona 1. Los histogramas de correlación cruzada (Fig. 23B, panel de la izquierda) muestran la existencia de interacción entre los pares de neuronas 1-2 y 2-3. La fuerza de acoplo entre las neuronas 1 y 3 (indirecta) viene dado por el producto de las conexiones directas ($W_{31} = W_{21} \cdot W_{32}$), lo que hace que W_{31} sea débil y por ello no obtengamos correlación entre las neuronas 1 y 3.

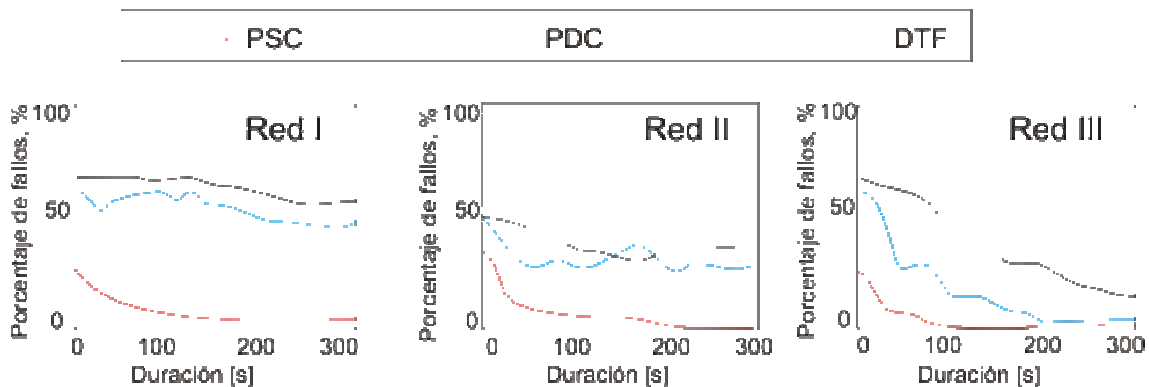


Figura 24. Porcentaje de inferencia estructural falsa para tres diferentes redes en función de la duración del registro empleado en la identificación.

Red I: Duración del registro (Fig. 24 y 25). Para segmentos de longitud mayor de 80 segundos, el método de PSC detecta correctamente la topología de la red (con errores inferiores al 5%). El método es capaz de distinguir conexiones directas (acoplo entre los pares de neuronas 1-2 y 2-3) de conexión indirecta (acoplo entre las neuronas 1 y 3 vía la neurona 2). Las curvas de los métodos DTF y PDC varían poco pero notamos un decremento en el porcentaje de fallos a medida que aumenta la duración del registro. La eficacia de PDC es menor que la de DTF pero nunca alcanzan niveles de error por debajo del 50 %. PDC tiende a identificar una topología de “todos con todos”. Para explicar dichos resultados recurrimos a las gráficas donde se detallan cada una de las

sinápsis. Como vemos el método de DTF detecta correctamente, incluso para registros muy cortos, la conexión desde la neurona 1 a la 2. Sin embargo, el alto error que presenta el método (50 % en promedio) es debido por una parte a la identificación como ausente de la conexión desde la neurona 2 a la 3 (existente) y por otra a los frecuentes falsos positivos que obtenemos de las conexiones ausentes (curvas en azul). Por su parte, el método PDC detecta correctamente las conexiones existentes (las dos curvas rojas alcanzan el valor de 1 para toda duración del registro). La fuente de error la encontramos en las sinápsis ausentes. Obtenemos en un alto porcentaje de los casos que dicha conexiones se identifican como existentes, en ningún caso obtenemos valores cercanos al 0 como esperaríamos.

Red I: Variabilidad de la actividad de disparo (Fig. 26). En este experimento estamos interesados en ver como el nivel de ruido (variabilidad del histograma ISI) influye en el rendimiento de los métodos. Es decir, queremos estudiar la existencia de regiones en el comportamiento de la actividad de disparo en las que los métodos proporcionan mejores resultados. Vemos que el método de PSC obtiene buenos resultados para niveles de ruido inferiores a 1.5 (a partir de dicho punto el error supera el 10%). Los métodos de DTF y PDC presentan regiones en las que el error de detección disminuye. Dicho rango es mas ancho para PDC que DTF lo que nos indica que es tolerante a más niveles de ruido. El estudio de las conexiones detalladas nos indica que para niveles bajos de ruido la topología detectada es “todos a todos” mientras que para niveles altos se percibe ninguna conexión entre las neuronas.

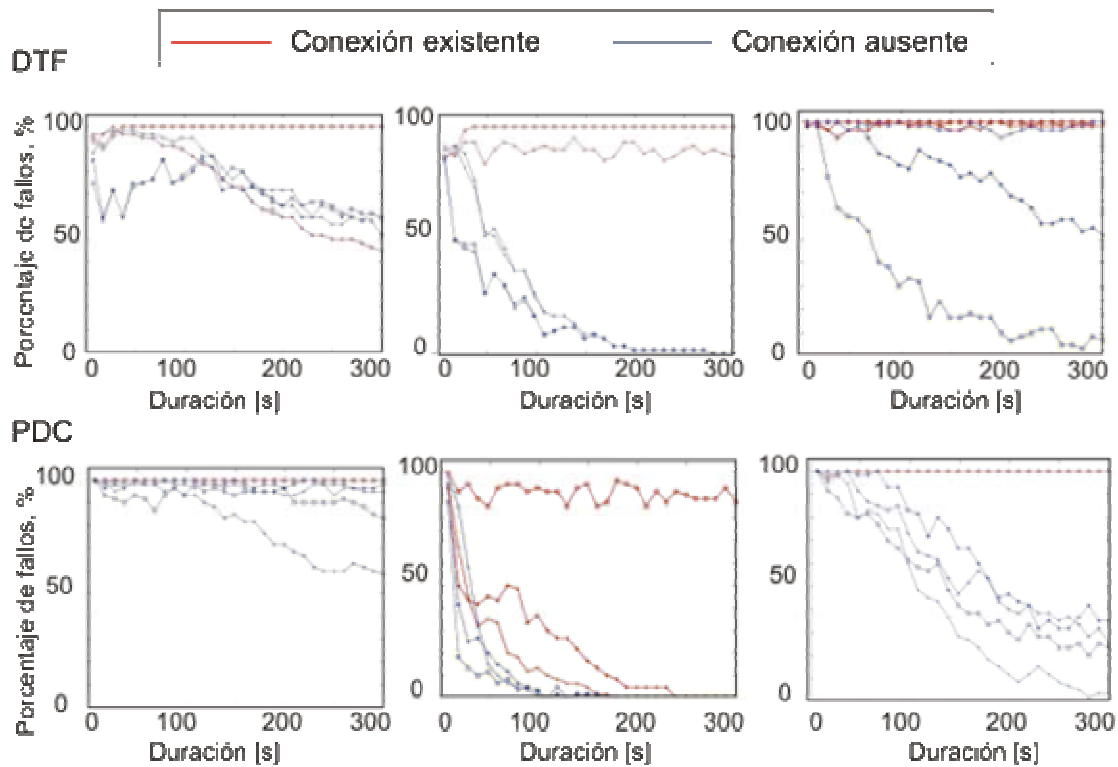


Figura 25. Porcentaje de inferencia estructural falsa para las redes I, II y III (en los paneles de la izquierda, en medio y derecha, respectivamente) en función de la duración del registro empleado en la identificación. Curvas de inferencia de la conexión para cada par de neuronas. En rojo, las sinápsis existentes en la red que idealmente deben alcanzar el valor 1 (identificada como existente) y en azul las ausentes que deben alcanzar el valor 0.

Red II

En esta red examinamos el rendimiento de los métodos en presencia de un bucle de excitación-inhibición. El efecto de la conexión inhibitoria desde la neurona 2 a la 1 puede observarse en el histograma ISI (Fig. 23A, panel de en medio) de la neurona 1, que aparece mucho mas ancho (desde 0.3 segundos hasta 0.9 segundos) que en el caso aislado (neurona 1 en la red I). En este caso el histograma ISI esta desplazado a la derecha respecto al histograma ISI de la neurona aislada indicando que su frecuencia de disparo ha disminuido. El histograma de la neurona 2 esta centrado alrededor de 0.13 segundos (similar al caso de la neurona aislada) y el de la neurona 3 en 0.2 (desplazado a la izquierda respecto al intrínseco debido a la excitación recibida por parte de la neurona 2). Los histogramas de correlación cruzada (Fig. 23A, panel de en medio) muestran un pico central denotando conexión entre las neuronas 1 y 2, mostrando además un comportamiento oscilatorio y un valle a la izquierda del

pico central (debido a la inhibición o la escasa actividad de la neurona 1). Los demás pares de neuronas aparecen como funcionalmente desacopladas.

Red II: Duración del registro (Fig. 24 y 25). Para registros de duración mayor a 80 segundos el método PSC alcanza un nivel de error inferior al 5% por lo que podemos decir que detecta correctamente la topología de la red. A partir de este punto su eficacia aumenta con la duración del registro. El método DTF presenta un mayor rendimiento alrededor de 80 segundos. Sin embargo, el método PDC muestra una curva siempre decreciente. El valor mínimo de error para los métodos DTF y PDC es el mismo (27 %). La trayectoria de la eficacia del método DTF puede explicarse si tenemos en cuenta cada una de las sinapsis por separado. Para una duración del registro inferior a 80 segundos (donde la curva de error presenta su valor mínimo) el método detecta correctamente la conexión desde la neurona 1 a la 2 (existente) así como las conexiones ausentes (vemos que las curvas en azul alcanzan un valor inferior al 0.1). A partir de dicho punto la eficacia del método disminuye, debido exclusivamente a las conexiones desde la neurona 1 a la 2 y desde la 2 a la 3 (conexiones existentes que se detectan como ausentes). En el método PDC obtenemos la situación inversa. En este caso podemos ver que el error es debido a las conexiones ausentes, principalmente por la sinapsis desde la neurona 1 a la 3 que es detectada como existentes. Sin embargo vemos que las curvas en rojo alcanzan el 100 % de aciertos.

Red II: Variabilidad de la actividad de disparo (Fig. 26). Las conclusiones que obtenemos son similares a las de la red I. El método de PSC se ve afectado para niveles de ruido superiores a 2 y a diferencia de la red I para niveles muy bajos de ruido obtenemos un error del 18%. En los métodos de DTF y PDC observamos también la presencia de regiones de ruido en las que el error en la detección de la topología es menor. El rango de ruido a los cuales PDC es tolerante es mayor que el de DTF, pero en este caso el error mínimo alcanzado por PDC es del 25 % mientras que en la red I se alcanzaba el 5 %. Estudiando cada una de las posibles sinapsis nos muestran que para niveles muy bajos de ruido la topología detectada es de “todos a todos” mientras que niveles altos todas las conexiones se tratan como ausentes.

Red III

En este caso existe una entrada común entre las neuronas 2 y 3. El punto más interesante en esta red es la posible sincronización entre las neuronas 2 y 3. Del histograma de ISI (Fig. 23A, panel de la derecha) podemos observar que la entrada excitadora incrementa la frecuencia de disparo respecto a la intrínseca para las neuronas 2 y 3 (como sucedía en las redes I y II). La correlación cruzada (Fig. 23B, panel de la derecha) muestra un comportamiento oscilatorio en las tres neuronas e interacción entre pares de neuronas 1-2 y 1-3, como podemos ver en el pico central del histograma y un leve acoplo entre las neuronas 2 y 3.

Red III: Duración del registro (Fig. 24 y 25). El método de PSC muestra buenos resultados (errores de detección inferiores al 5 %) para segmentos de duración mayores de 50 segundos, llegando a alcanzar el 0 % de fallos. Las curvas de error para los métodos DTF y PDC decrecen al aumentar la duración del registro. A partir de los 150 segundos DTF alcanza valores inferiores al 10 % por lo que podemos decir que detecta correctamente la red en un 90 % de las simulaciones, como muestran las gráficas detalladas. Sin embargo PDC a pesar de su tendencia a disminuir el número de errores se estabiliza en un valor del 16 %, lo que supone detectar al menos una de las conexiones erróneamente, como vemos en las gráficas detalladas para cada conexión. Las curvas en rojo (existentes) son detectadas correctamente para toda duración, sin embargo la conexión entre las neuronas 2 y 3 (en ambos sentidos) alcanzan un error del 40 %. Observar que para una duración del registro inferior a los 10 segundos los métodos DTF y PDC detectan un patrón de conectividad de “todos con todos” (tanto las curvas rojas como las azules parten del valor 1). Comportamiento que se repite para las tres redes.

Red III: Variabilidad de la actividad de disparo (Fig. 26). En esta red obtenemos unos resultados similares a los de la red I. El método de PSC comienza con un error del 18% para niveles muy bajos de ruido, decreciendo hasta niveles superiores a 1.5. Los métodos de DTF y PDC siguen el comportamiento

observado en los casos anteriores. Una vez más el rango en el que trabaja con menor error PDC es mayor que el de DTF, alcanzando valores inferiores al 5%.

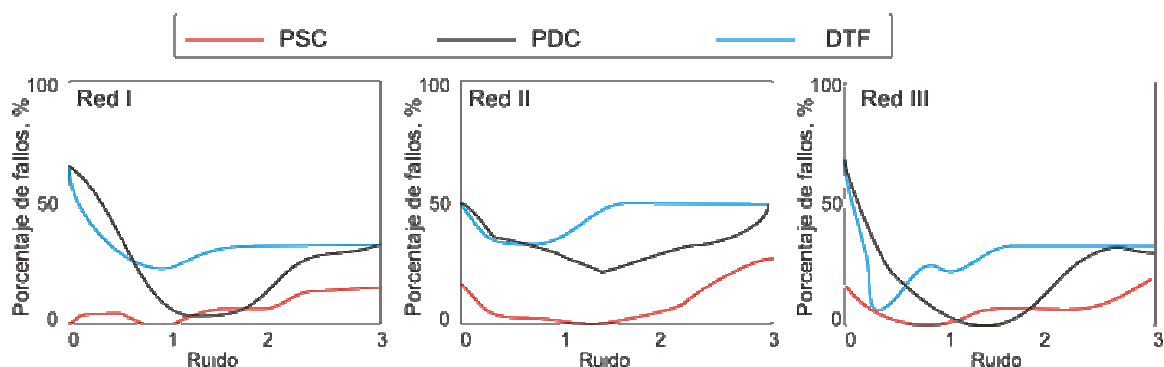


Figura 26. Porcentaje de inferencia estructural falsa para tres diferentes redes en función del nivel de ruido (variabilidad del histograma de intervalos entre disparos) empleado en la identificación.

En este trabajo hemos estudiado diferentes métodos disponibles en la literatura para inferir la arquitectura funcional de redes neuronales a partir de registros extracelulares (a partir únicamente los momentos de disparo de cada neurona). Entre otros hemos elegido algunos de los métodos más empleados: Correlación Cruzada, Coherencia Espectral Parcial, y métodos basados en la causalidad de Granger. Recogemos las ventajas y limitaciones de cada método derivadas de nuestro estudio.

Correlación Cruzada (CC). Este método se presenta como capaz de revelar interacciones entre pares de neuronas, su tipo y dirección. En las tres redes propuestas CC muestra un claro pico central para neuronas que interactúan. Sin embargo, para conexiones indirectas y ante la presencia de inhibición los resultados pueden ser engañosos o ambiguos de interpretar. En la red II, CC muestra una identificación incorrecta de la conexión entre las neuronas 1 y 3. La dirección de la sinapsis podría identificarse en la asimetría de CC alrededor del retraso cero, pero en las redes estudiadas no hemos encontrado una evidencia clara en este sentido. Los input inhibitorios deben conllevar un valle (depresión) en CC; en la segunda red tenemos inhibición desde la neurona 2 a la 1 sin que esto se refleje en el diagrama de CC. La falta de actividad de la neurona 1 puede ser debida tanto a inhibición como a un comportamiento

silente por parte de la neurona, presentando ambigüedad en este caso. Otro punto a mencionar es la influencia del comportamiento individual de una neurona en CC. Basta que una de las dos neuronas presente un comportamiento oscilatorio para observar picos equidistantes en el histograma, de los que podríamos concluir una regularidad en el disparo de las dos neuronas, como vemos en nuestras redes.

Coherencia espectral parcial (PSC): Nuestra evaluación muestra que el método de PSC es el mejor método estadístico en la detección de interacciones sinápticas (teniendo en cuenta sus limitaciones). Es un método robusto para distinguir entre conexión directa e indirecta. Sin embargo, en los casos extremos de comportamiento oscilatorio (ante niveles de ruido nulo o muy altos) el método empeora sus habilidades. Para comportamientos libres de ruido, la inversa de la matriz de densidad espectral diverge y solo podemos obtener información fiable a partir de SC. El método PSC presenta tres limitaciones que enumeramos: 1) no proporciona conocimiento acerca del tipo de sinapsis; 2) No detecta bucles (presente en la red II); y 3) la dirección de la sinapsis no es fácilmente extraíble. Nuestra evaluación de los métodos nos lleva a considerarlo el método “de primera elección” debido a su simplicidad y bajo nivel de error.

Métodos basados en la causalidad de Granger (DTF y PDC). En general, estos métodos tienen un porcentaje de errores mayor que PSC, sin embargo proporcionan una información indispensable sobre la configuración de la red: detectan la dirección del flujo de información (dirección de la sinapsis) entre neuronas, siendo esta la propiedad más importante de los métodos basados en la causalidad de Granger.

DTF es capaz de detectar correctamente la dirección de la interacción pero presenta un mayor porcentaje de error al distinguir entre conexión directa e indirecta. El método PDC presenta también la propiedad de detectar la dirección de la sinapsis. Sin embargo, no identifica las conexiones indirectas correctamente. Todos los métodos basados en la causalidad de Granger presentan dos limitaciones: 1) problemas al distinguir conexión directa de indirecta, y 2) no proporcionan conocimiento acerca del tipo de la sinapsis. En

comparación, DTF (y DC) es más robusto que PDC al detectar sinapsis unidireccional. Para registros cortos, PDC tiende a concluir erróneamente la presencia de bucles entre todos los pares de neuronas. El porcentaje de error de DTF es siempre menor que el de PDC. En comparación, PDC es más robusto detectando conexiones existentes. Sin embargo DTF es más eficiente en la identificación de las conexiones ausentes que PDC. En cuanto al comportamiento frente a la variabilidad del histograma ISI podemos decir que para niveles extremos de ruido (caso libre de ruido o niveles altos) los métodos funcionan pobremente. PDC muestra un rango de trabajo más ancho en este sentido que DTF, es decir, es tolerante a más niveles de ruido que DTF.

6.2. Eliminación de artefactos en el EEG y determinación y discriminación de circuitos cortico-corticales

Respecto a las señales de mayor escala espacial, en los registros electroencefalográficos (EEG) estudiamos la asociación entre las diferentes áreas corticales. El análisis de interacción entre las señales electroencefalográficas registradas por los electrodos en diferentes posiciones del cuerpo cabelludo ha sido muy amplio. En este contexto la coherencia espectral es una herramienta ampliamente usada para determinar el grado de sincronía entre las señales, ya que el contenido espectral del EEG revela una importante información desde el punto de vista clínico. Sin embargo el uso directo de dichos métodos sobre los registros EEG está fuertemente restringido por la presencia de artefactos (debidos al movimiento de los ojos, parpadeo, actividad muscular, etc.) cuya magnitud puede ser mayor que la de la señal neuronal.

6.2.1 Eliminación de artefactos en el EEG

Actualmente, un procedimiento muy usado para evitar los artefactos es la selección manual o semi-automática de épocas libres de artefactos. Aunque en algunos casos puede ser práctico, este procedimiento de supresión de artefactos es subjetivo, laborioso y conlleva la pérdida de una gran cantidad de datos disponibles para el posterior análisis. Como ejemplo, de un EEG de 10 minutos de duración de un sujeto sano, podría obtenerse una época de aproximadamente un minuto de segmentos yuxtapuestos. En la práctica médica la masiva presencia de artefactos en, por ejemplo niños (Tran *et al.*, 2004) o pacientes con cierto daño cerebral (Urrestarazu *et al.*, 2004), agravan aún más la pérdida de datos y limitan fuertemente la capacidad de diagnóstico sobre el EEG. Pero aparte de la reducción de datos, la segmentación lleva a cuestionarse la naturaleza estacionaria de los datos a lo largo de épocas distantes. Por ello, es necesario aplicar un procedimiento que no requiera de cortes sucesivos (como un filtro) para limpiar los datos de artefactos.

Una señal EEG registrada en por un electrodo puede considerarse como una mezcla de señales desde diferentes regiones del cerebro y artefactos. En una primera aproximación las señales de origen neuronal son independientes de los

artefactos (Jung *et al.*, 2000b; James y Hesse, 2005). Teniendo esto en cuenta se ha propuesto un método de supresión de artefactos basado en el análisis de componentes independientes (ICA) (Bell y Sejnowski, 1995). Sin embargo la evaluación de dicho método (Castellanos y Makarov, 2006) nos ha llevado a considerarlo como un procedimiento contaminante tanto en el dominio de tiempo como de frecuencia. Por ello proponemos un nuevo método de supresión de artefactos en el EEG basado en ICA y en el análisis wavelet. El método parte de ICA y hace uso de wavelet no para eliminar el ruido de la señal, como suele emplearse, sino como un paso intermedio que se aplica sobre las componentes independientes. Con la perspectiva de estudiar los circuitos cortico-corticales realizamos una evaluación comparada de la distorsión que introducen los métodos basados en ICA y wICA sobre las propiedades espectrales y la coherencia.

Los circuitos funcionales cortico-corticales se muestran como una herramienta prometedora en nuestro siguiente objetivo, estudiar los aspectos diferenciales entre personas control y pacientes que han sufrido algún tipo de daño cerebral. En la actualidad no existen métodos fiables y válidos para el diagnóstico de los pacientes que, después de tener un traumatismo craneoencefálico o un trastorno cerebrovascular, quedan en estado vegetativo (coma vigil), en estado de mínima respuesta o con un trastorno neurocognitivo severo. Estos pacientes quedan en un estado en los que es difícil determinar, aunque estén con los ojos abiertos, parezca que siguen con la mirada, y que mantienen el ciclo sueño/vigilia, si realmente tienen conciencia. Aquellos que están conscientes pero no pueden demostrarlo clínicamente deben ser tratados de diferente manera que aquellos que no tienen conciencia.

El método de diagnóstico más usado hoy en día es la puntuación que sugiere el procedimiento de Glasgow y que se basan en una exploración clínica del paciente. Sin embargo la ambigüedad en las respuestas de dicha exploración y el solape sintomático de algunos estados de coma a nivel de comportamiento llevan a un 5% de error en la valoración del nivel de profundidad del estado de coma. Por ello es necesario obtener una herramienta de diagnóstico que permita distinguir el tipo de actividad cerebral subyacente a la estimulación en este tipo de pacientes, ya que la exploración clínica por sí

sola no ofrece garantías absolutas de diagnóstico en pacientes sin respuestas claras, coherentes y consistentes.

Un primer paso en este objetivo es comprobar si los circuitos cortico-corticales son una característica diferencial capaz de discriminar entre sujetos control y pacientes con daño cerebral leve. Dicha comprobación abriría las puertas a un estudio más detallado de los diferentes niveles de profundidad de daño cerebral o el grado de recuperación que hayan experimentado los pacientes, mediante la determinación de los circuitos cortico-corticales respuesta a un apropiado protocolo de estimulación sensorial.

Antes de estudiar la determinación de los circuitos a partir de los registros electroencefalográficos reparamos en unos de los problemas de mayor importancia en el análisis de EEG: la identificación y posterior eliminación de sus artefactos; paso previo y obligatorio ante cualquier tipo de análisis o estudio de la señal debido a que su presencia puede hacer que el EEG no sea interpretable o bien que una corrosiva eliminación de los mismos conlleve la pérdida de las propiedades diagnósticas de la señal.

Entre los artefactos más comunes que aparecen en el EEG están:

1. **Chasquido del electrodo:** Una importante fuente de artefactos es el contacto deficiente del electrodo con el cuero cabelludo, producido cuando el sujeto realiza algún movimiento con la cabeza. Este fenómeno se conoce como “chasquido” y son debidos a un incremento momentáneo y súbito en la impedancia del electrodo. El potencial extracerebral es remitido al electrodo causante.

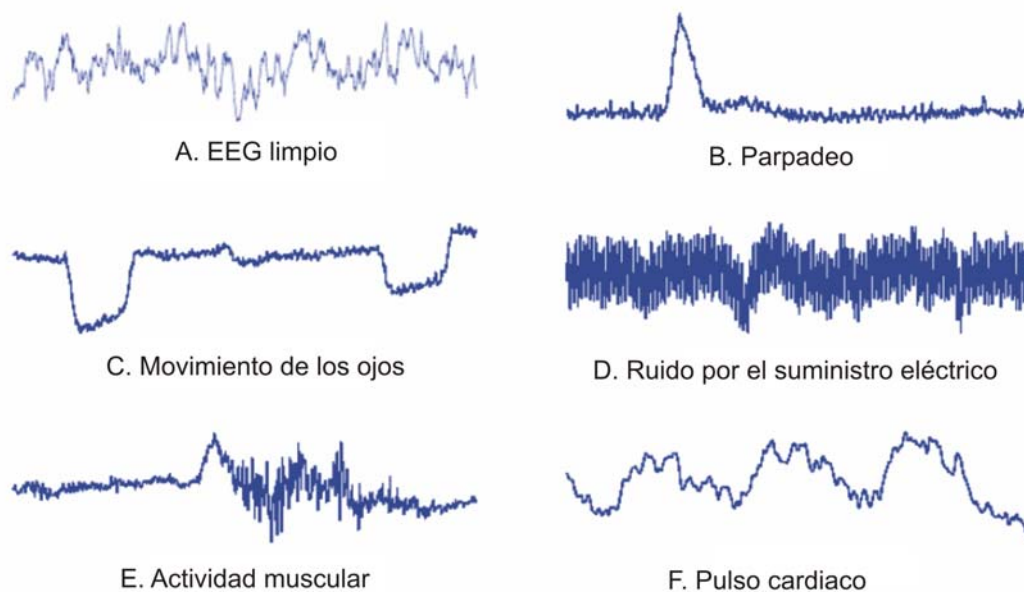


Figura 27: Artefactos típicos que se superponen al EEG limpio (A): Parpadeo (B), movimiento de ojos (C), suministro eléctrico (D), actividad muscular (E) y pulso cardiaco (F).

2. **Artefacto por el parpadeo:** Potenciales de voltaje máximo en las derivaciones frontales. El registro se debe al potencial corneorretiniano (la córnea es electropositiva respecto a la retina, del orden de milivoltios) y hay una contribución menor del electrorretinograma (ERG). Durante el parpadeo los globos oculares giran levemente hacia arriba (fenómeno de Bell). Así, los electrodos fronto-polares se vuelven momentáneamente positivos (Fig. 27B y Fig. 28).

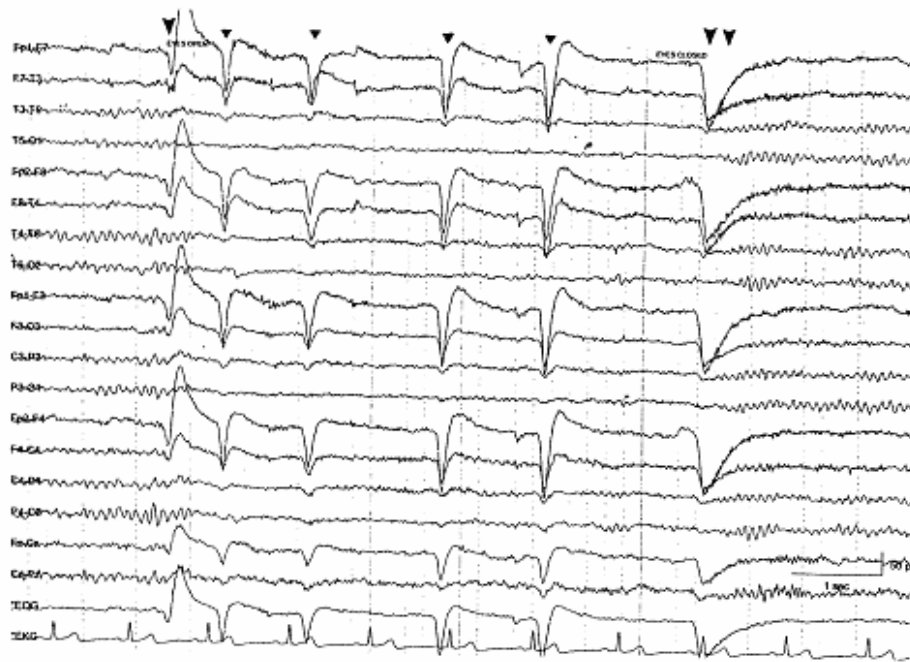


Figura 28: EEG contaminado por artefactos de parpadeo

3. **Artefacto por movimiento ocular lateral:** Se pueden reconocer en las derivaciones fronto-temporales en forma de potenciales puntiagudos fuera de fase. Por ejemplo, si el ojo se desvía hacia la izquierda, el globo ocular izquierdo se aproxima al electrodo temporal anterior izquierdo (F7), mientras que el globo ocular derecho gira hacia el electrodo temporal anterior derecho (F8). Por tanto, se registra un potencial positivo en F7 y un potencial negativo en F8 (recordar que la córnea es positiva respecto de la retina). De este modo, en el registro bipolar, las ondas resultantes se separan entre sí en los canales conectados a F7, mientras que en los canales conectados a F8 ocurre lo contrario. (Fig. 27C y Fig. 29).

7. **Artefacto por la respiración:** Potenciales excesivamente lentos con duración de varios segundos. El artefacto refleja el acortamiento de las corrientes entre los electrodos debido a una reducción de la impedancia en los mismos. En este caso, la sudoración (rica en sal) da lugar a lo que se conoce como puente de sal.
8. **Artefacto por el pulso:** Onda rítmica y de configuración puntiaguda que tiene la misma frecuencia que el electrocardiograma (ECG). El tiempo de ascenso es más rápido que el de descenso. Este artefacto aparece cuando se coloca un electrodo sobre una arteria del cuero cabelludo, por ejemplo sobre una rama de la arteria temporal superficial. El desplazamiento del electrodo lejos de la arteria (1 – 2 cm) elimina el artefacto (Fig. 27F).
9. **Artefacto por temblor:** Generalmente es una frecuencia rítmica que a menudo es más evidente en las derivaciones posteriores. Los movimientos repetitivos de un miembro se transmiten a la cabeza, dando lugar a oscilaciones sutiles que afectan a los electrodos occipitales. Un ejemplo típico es el temblor de 5 a 6 Hz de personas con parkinson (que puede imitar a una descarga epiléptica rítmica). Se suele añadir un electrodo de electromiograma (EMG) para mayor claridad.

La señal electroencefalográfica que registra un electrodo situado en el cuero cabelludo puede considerarse como una mezcla de señales provenientes de diferentes áreas del cerebro y señales catalogadas como artefactos. En una primera aproximación las señales de origen neuronal pueden considerarse independientes de los artefactos (Jung *et al.*, 2000b; James y Hesse, 2005). Teniendo esta aproximación en mente se ha propuesto un método de supresión de artefactos que no requiere la eliminación de segmentos y que está basado en el análisis de componentes independientes (ICA, de sus siglas en inglés) (Bell y Sejnowski, 1985). Posteriormente se han ido presentando diferentes modificaciones al algoritmo original (Anemüller *et al.*, 2003; James and Gibson, 2003; James and Lowe, 2003; Joyce *et al.*, 2004; Flexer *et al.*, 2005; Melissant *et al.*, 2005). El objetivo de ICA es descomponer la señal de EEG registrada en fuentes estadísticamente independientes (componentes), y rechazar entre ellas aquellas responsables del artefacto. La mayoría de las

aplicaciones de este método se han centrado en la supresión de los artefactos oculares, sobre todo los debidos al parpadeo, donde este método se presenta bastante útil (Vigario, 1997; Jung *et al.*, 2000a, b; Tong *et al.*, 2001; Joyce *et al.*, 2004; Flexer *et al.*, 2005). Entre la comunidad científica ICA se concibe como una herramienta robusta y poderosa para la eliminación de artefactos (Jung *et al.*, 2000a, b; Vigario *et al.*, 2000; Tong *et al.*, 2001; Iriarte *et al.*, 2003; Tran *et al.*, 2004; Urrestarazu *et al.*, 2004). Sin embargo, todavía hay algunas cuestiones que merecen ser discutidas:

1. La identificación de componentes responsables del artefacto requiere la experiencia del usuario en el campo y un conocimiento a priori sobre la estructura del artefacto. Además para una aplicación óptima del algoritmo deben usarse segmentos de EEG relativamente cortos, 10 s según sugieren los autores (Jung *et al.*, 2000a) por lo que el método supone un laborioso análisis secuencial del EEG dividido en segmentos de corta duración. En este punto nos encontramos con un resultado que podría considerarse contra-intuitivo: *una mayor cantidad de datos no siempre es mejor*, como se discute por ejemplo en Brown *et al.* (2001). En un paso que perseguía la automatización del método, James y Gibson (2003) propusieron el uso de componentes independientes ajustadas a una señal de referencia que incorporase información sobre la estructura temporal del artefacto. Otro acercamiento supone la correlación entre el oculograma y las componentes independientes (Flexer *et al.*, 2005).
2. Aunque ICA es considerada como una técnica útil para eliminar los artefactos en el EEG, se han realizado pocos estudios cuantitativos que muestren sus ventajas y limitaciones. Los resultados publicados se han centrado casi exclusivamente en la mejora espectral que supone la descomposición de ICA cuando se eliminan los artefactos más típicos. Aunque se ha demostrado de la señal de EEG corregida por ICA exhibe una fuerte reducción en la banda de frecuencias correspondiente al artefacto (Tong *et al.*, 2001; Tran *et al.*, 2004) también se ha alertado sobre la corrupción del espectro de potencias que sufre la actividad neuronal subyacente (Wallstrom *et al.*, 2004; Kierkels *et al.*, 2006). Un

problema clave en el campo de la eliminación de artefactos del EEG es el estudio cuantitativo de cómo se distorsiona el espectro de la actividad cerebral cuando se aplica la corrección basada en ICA.

3. Una de las aplicaciones inmediatas que sugiere el EEG es el estudio de circuitos cortico-corticales y su reorganización ante cambios de estados cerebrales [por ejemplo, Rodríguez *et al.*, 1999; von Stein *et al.*, 1999; Varela *et al.*, 2001]. En la literatura actual no se ha evaluado la distorsión que podría inducir la supresión de artefactos empleando ICA en el análisis de la sincronía entre señales registradas por diferentes electrodos. Las características no locales como la coherencia espectral directa y parcial dependen de la relación de fase entre las señales bajo estudio. Por tanto la distorsión de la coherencia debido a los artefactos y su supresión no son deducibles de la distorsión del espectro de potencias (amplitud). Esto evidencia la necesidad de un estudio cuantitativo de la distorsión de la coherencia para poder realizar un análisis fiable de los circuitos.

El estudio de estas tres cuestiones y la evaluación del método ICA para suprimir los artefactos ha tenido como fruto la propuesta de un nuevo método de eliminación de artefactos en el EEG, basado en ICA y en la transformada wavelet y que denotamos como wICA. Hemos evaluado el rendimiento de los métodos de supresión de artefactos ICA y wICA aplicándolos a registros EEG con dos objetivos definidos: a) testar la calidad de la recuperación de la señal cerebral sobre la que se superpone el artefacto. Para ello empleamos datos semi-simulados, donde la señal cerebral conocida a priori se usa como referencia para estimar la calidad de la recuperación en el dominio de tiempo. b) cuantificar la distorsión del espectro de potencias del EEG y la coherencia espectral introducidos por ambos métodos, ICA y wICA. En este caso usamos registros EEG y tomamos como referencia épocas libres de artefactos situadas entre dos artefactos de parpadeo consecutivos. Dichos segmentos son delimitados manualmente en el registro original inspeccionando cuidadosamente cada canal (Jung *et al.*, 200b) de forma que no haya ningún artefacto de otro tipo en la señal del electrodo seleccionado (por ejemplo, FP1). Nos referiremos a estas épocas como *control*. Una vez que hemos obtenido lo

datos a comparar (épocas control y los registros de EEG procesados por ICA y wICA), se aplica un análisis espectral y de conectividad. Comparamos las características derivadas (espectro de potencia y coherencia) obtenidas sobre la misma época después de aplicar los métodos de ICA y wICA con las designadas como control.

Procedimiento de supresión de artefactos con los métodos ICA y wICA

Ilustramos la supresión de artefactos apoyándonos en un ejemplo de eliminación de artefactos debidos al parpadeo y pulso cardiaco. El artefacto generado por el parpadeo aparece en el EEG como un gran pulso bien localizado en el tiempo y que tiene un gran impacto sobre las señales del EEG, sobre todo las frontales. El artefacto del pulso cardiaco aparece cuando un electrodo está situado muy cerca de una arteria y se muestra como un tren de pulsos cortos y de amplitud relativamente baja a una frecuencia de unos 70 pulsos por minuto. La figura 30A muestra un ejemplo de EEG de una persona adulta sana en estado de reposo y con los ojos abiertos. El segmento de datos mostrado contiene los dos tipos de artefacto en los que estamos interesados: dos episodios de parpadeos (localizados alrededor de 3 y 7 segundos) que se manifiestan sobre casi todos los canales teniendo un efecto mayor en los frontales (FP1 hasta F8). Los segmentos control (para FP1) se han tomado entre dichos artefactos consecutivos, es decir desde 3.5 a 6.5 segundos. El artefacto del pulso cardiaco contamina sobre todo las señales registradas por los electrodos temporo-occipitales del lado izquierdo (T3, T5, O1).

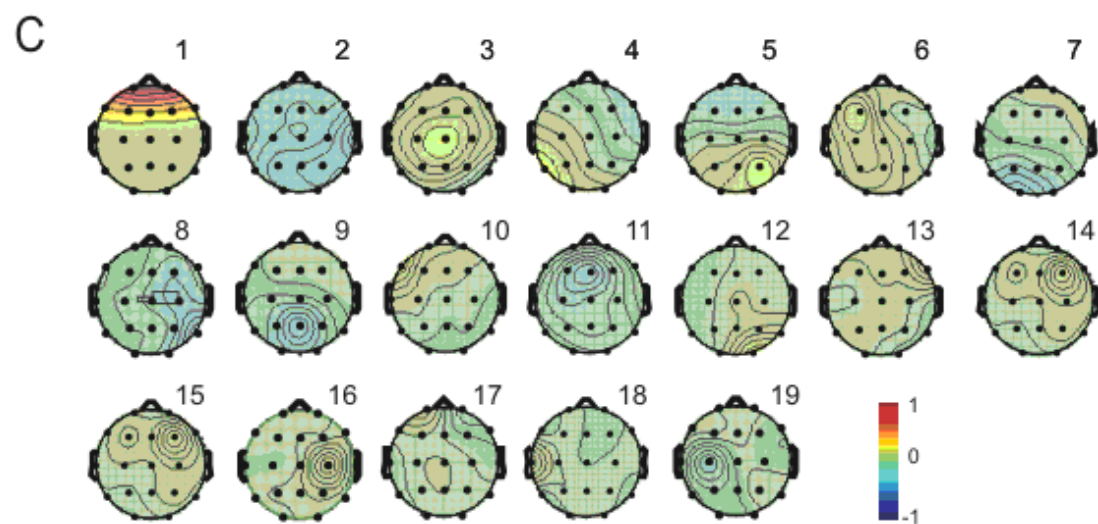
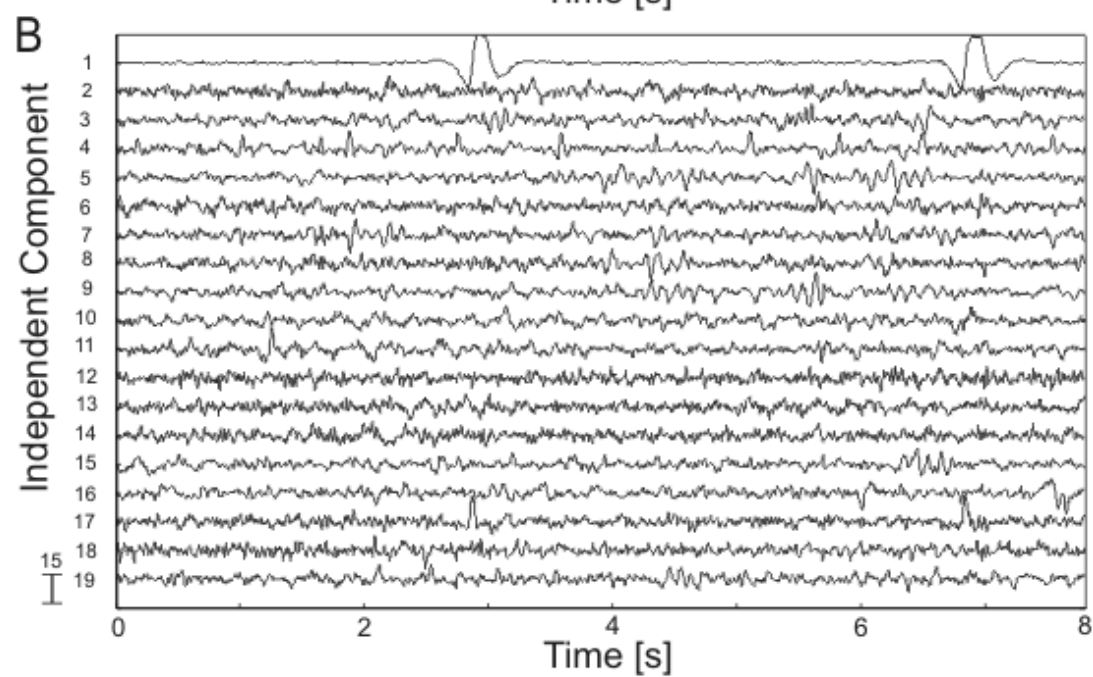
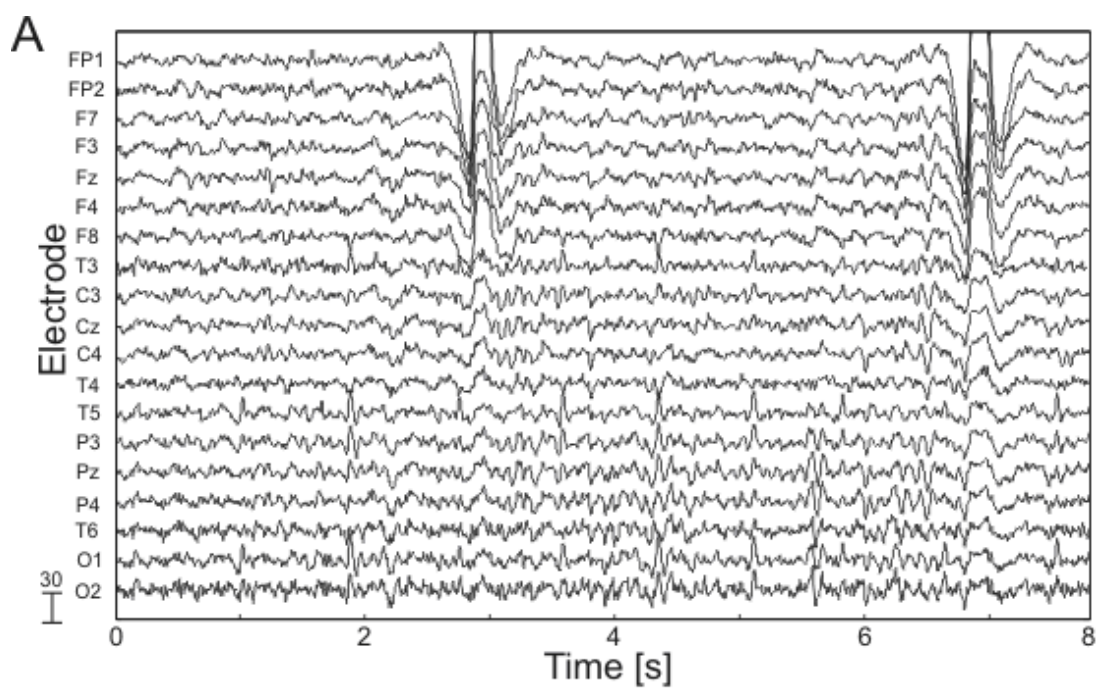


Figura 30: Ejemplo de descomposición de un EEG contaminado por artefactos de parpadeo y cardiacos. A) Señal original (se muestra un segmento de 8 segundos de longitud). B) Descomposición de una señal EEG original en sus 19 fuentes (componentes independientes). La primera componente es identificada como responsable del artefacto generado por el parpadeo, mientras que la cuarta captura el artefacto del pulso cardiaco. C) Mapa del cuero cabelludo que muestra la fuerza de proyección relativa de cada componente sobre los 19 electrodos de registro. Las componentes #1 y # 4 proyectan fuertemente sobre áreas frontales y tempo-occipitales del lado izquierdo, respectivamente.

El algoritmo ICA separa la contribución artificial de la neuronal en 19 componentes independientes (el mismo número que señales registradas). La primera componente exhibe unos pulsos fuertes (Fig. 30B) y que proyectan sobre todo a los electrodos frontales (Fig. 30C). Esto coincide con las características conocidas del artefacto de parpadeo (Jung *et al.*, 2000a). Usando este conocimiento a priori podemos identificar la primera componente como responsable del artefacto de parpadeo. De igual forma, la cuarta componente (Fig. 30B) captura los pulsos rítmicos del artefacto cardiaco, que proyecta sobre áreas tempo-occipitales del lado izquierdo (Fig. 30C).

De acuerdo al método de supresión de artefactos basado en ICA anulamos la primera y la cuarta componente y reconstruimos el registro EEG usando la ecuación (4), lo que nos da el EEG corregido por ICA (Fig. 31A). Notamos que de esta forma y de acuerdo con las suposiciones de ICA eliminamos únicamente los artefactos de parpadeo y pulso cardiaco. “Limpiamos” el mismo segmento de EEG con el algoritmo wICA. Una vez estimadas las componentes independientes por el algoritmo ICA aplicamos el procedimiento de corte (“thresholding”) wavelet automático (pasos 2 – 4, página 92 sección de métodos) seguido de la recomposición de la señal (paso 5). La figura 31B muestra el EEG corregido por wICA. Una primera inspección visual del EEG limpiado confirma que ambos métodos suprimen los dos tipos de artefactos. Sin embargo, analizando las señales en detalle en los electrodos frontales dentro del segmento libre de artefactos (entre los dos episodios de parpadeo) observamos alguna distorsión introducida por el método ICA. La señal de EEG limpiada por wICA se aproxima más a la control (Fig. 31C).

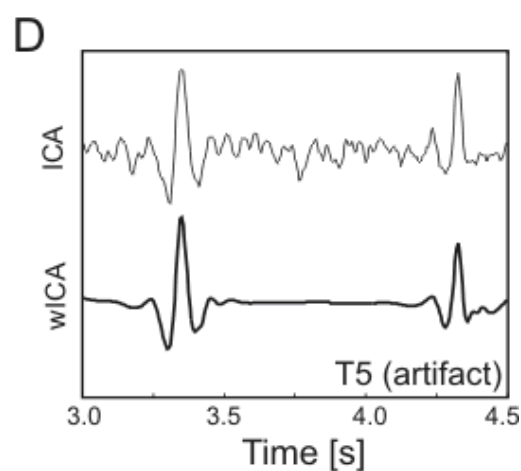
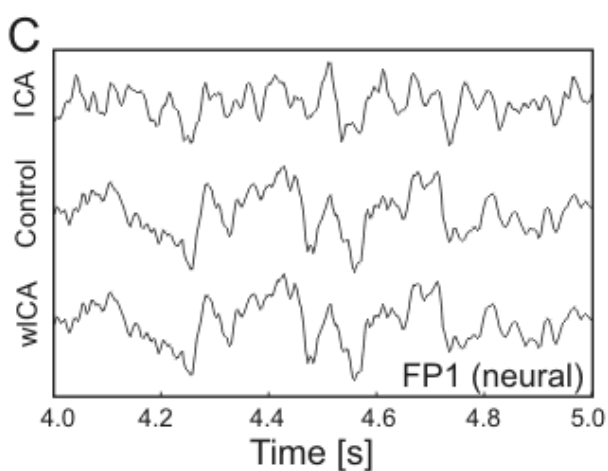
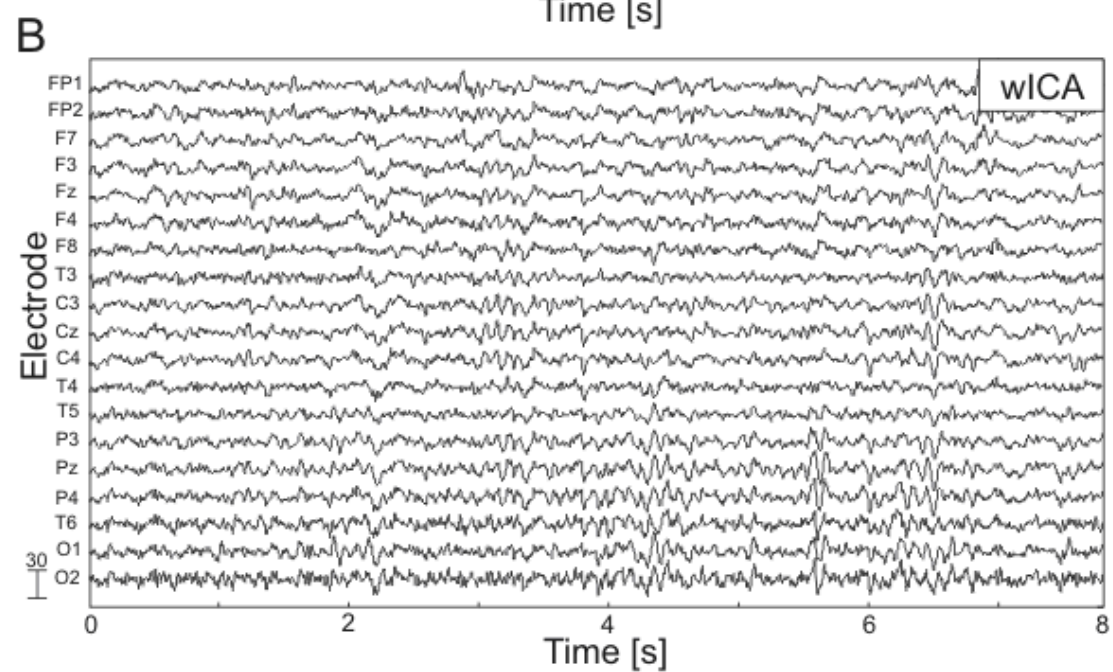
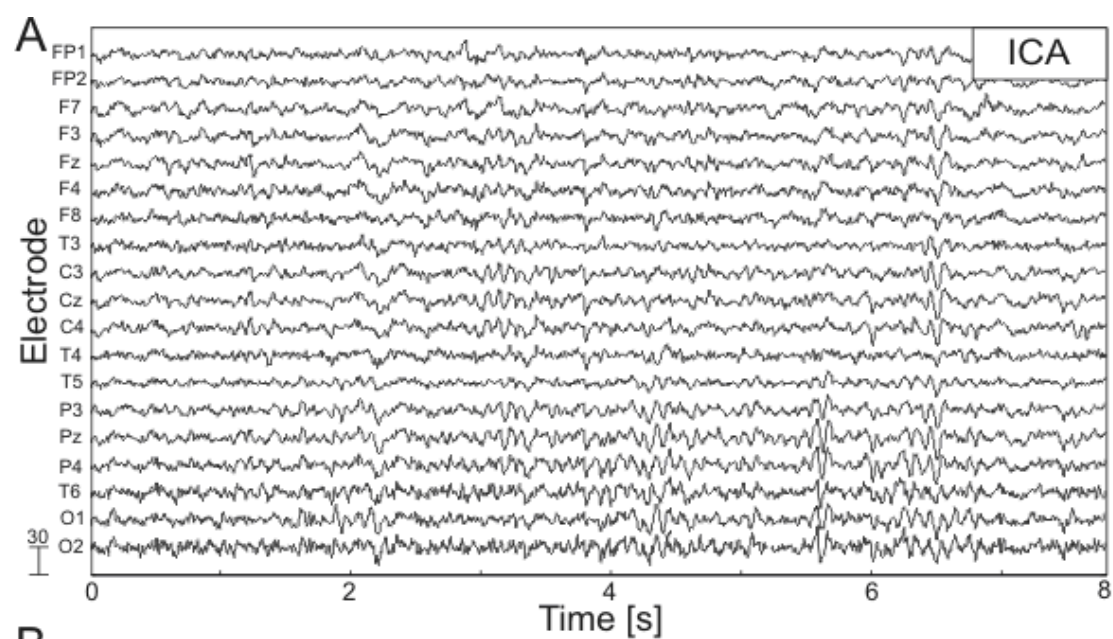


Figura 31: Supresión del artefacto y distorsión de la señal por los métodos ICA y wICA. A y B) Los artefactos oculares y de pulso cardiaco son eliminados por los métodos ICA (A) y wICA (B) (comparar con la figura 3A). C) Ampliación de la señal en los segmentos designados como control (libres de artefacto) en el electrodo FP1. La señal limpiada por wICA reproduce prácticamente la señal control, mientras que la limpiada por ICA introduce alguna distorsión. D) Estimación del artefacto del pulso cardiaco que contamina la señal del electrodo T5 de acuerdo a la ecuación (11)

Cuantificamos el error cuadrado medio en el dominio de tiempo:

$$MSE = E \left[\left(x_{ICA/wICA}(t) - x_{control}(t) \right)^2 \right], \text{ de donde tenemos para la señal registrada}$$

por el electrodo situado en la posición FP1 10.6 y 0.1 μV^2 para ICA y wICA, respectivamente. Para caracterizar la calidad de la corrección del pulso cardiaco por ambos métodos reconstruimos dicho artefacto presente en la señal T5:

$$a_{pulso\ cardiaco}(t) = x_{original} - \hat{x}_{ICA/wICA}(t)$$

La figura 31D muestra la estimación del artefacto que proporcionan ambos métodos. La reconstrucción del artefacto que estiman ICA y wICA retienen alrededor de 4.1 y 0.5 μV^2 de la actividad cerebral, respectivamente. Recalcamos que esta actividad se pierde en el EEG corregido por ambos métodos. Para descartar posibles fallos en la ejecución del algoritmo ICA o peculiaridad en los datos hemos repetido el procedimiento empleando diferentes algoritmos de ICA (Infomax y FastICA) y hemos usado diferentes registros de EEG. Consistentemente con otros estudios (McKeown *et al.*, 1998; Brown *et al.*, 2001) ambos algoritmos aplicados a diferentes registros nos proporcionan resultados similares. Por tanto podemos concluir que los métodos ICA y wICA suprimen los artefactos pero wICA conserva mucho mejor la actividad cerebral fuera de los episodios de artefacto. Notar que las componentes identificadas como responsables de los artefactos (Fig. 30B) contienen actividad (de origen neuronal) entre dos episodios consecutivos de artefactos, y que por definición debería ser nula. Por tanto al anular las componentes, según marca el procedimiento de ICA, perdemos dicha actividad lo que provoca la distorsión del EEG que acabamos de cuantificar.

Como hemos adelantado pretendemos evaluar el rendimiento de ICA y wICA con dos objetivos claros: a) testar la calidad en la recuperación de la señal bajo el artefacto; y b) cuantificar la distorsión espectral y coherente que introducen ambos métodos.

a) Recuperación de la señal cerebral bajo el artefacto

Hemos visto que ICA podría alterar la señal cerebral, mientras que wICA preserva mejor la actividad neuronal. Cuantificamos en el dominio de tiempo las distorsiones introducidas por los métodos cuando recuperamos la señal cerebral que está debajo del artefacto. Para ello hacemos uso de datos de EEG semi-simulados.

La figura 32A muestra un ejemplo de tal registro. Los artefactos oculares se propagan a través de áreas frontales y el del pulso cardiaco está más presente en el canal F8. Siguiendo el procedimiento discutido anteriormente calculamos las 19 componentes independientes (Fig. 32B) e identificamos la 1 y 3 como responsables de los artefactos oculares y de pulso cardiaco, respectivamente. Notar que tal y como ya se comentó que fuera de los episodios de artefacto las componentes contienen una considerable cantidad de actividad cerebral que incluso persiste durante el artefacto. Esta persistencia de actividad degrada la calidad de la limpieza de ICA. wICA nos permite recuperar esta actividad mejorando así el rendimiento del método de supresión de artefactos. La figura 32C muestra una ampliación de la actividad cerebral, los artefactos simulados que superponemos y las señales recuperadas por ICA y wICA. De forma similar a la figura 31C observamos una distorsión mas prominente en la señal corregida por ICA que en la de wICA, lo que sucede para los dos tipos de artefactos.

Para cuantificar la calidad de la recuperación de la señal cerebral calculamos el error cuadrado medio residual entre el EEG de referencia (libre de artefactos) en los canales FP1 y F8 y aquellos obtenidos después del procesamiento de ICA o wICA. La tabla 2 recoge los resultados.

	Canal FP1 (μV^2)	Canal F8 (μV^2)
Semi-simulado	92.4	11.2
ICA	9.9	7.5
wICA	1.6	2.3

Tabla 2: Error cuadrático medio para los EEG corregidos con ICA o wICA en el dominio de tiempo.

La presencia de artefactos oculares y de pulso cardiaco en el EEG semi-simulado (control + artefactos) se caracteriza por 92.4 y 11.2 μV^2 en la señal “registrada” relativa al control para los electrodos FP1 y F8, respectivamente. El EEG limpiado por ICA reduce fuertemente (unas 9 veces) la presencia de artefactos en el canal FP1 y moderadamente (1.5 veces) en el canal F8. Esto corresponde a una reducción de 19.4 y 3.5 dB del artefacto ocular y de pulso cardiaco, respectivamente. wICA mejora considerablemente la calidad de la supresión del artefacto y mejora el rendimiento de ICA 6 veces en la separación de la actividad cerebral del artefacto ocular y más de tres veces en el caso del artefacto de pulso cardiaco. Por tanto, tenemos que wICA proporciona una reducción de 35.2 y 13.7 dB de los artefactos oculares y de pulso cardiaco, respectivamente.

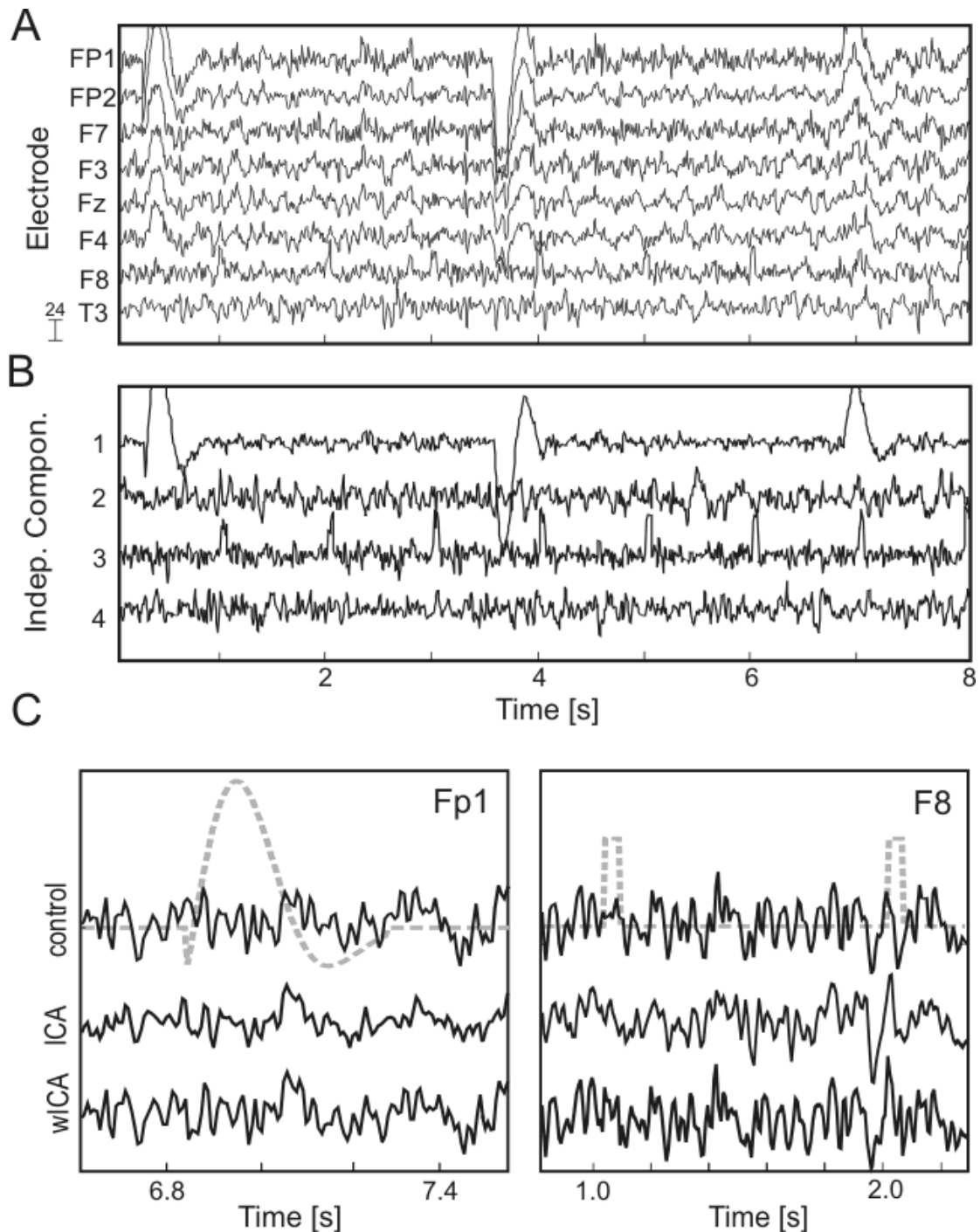


Figura 32: Recuperación de la señal cerebral bajo el artefacto sobre datos de EEG semi-simulados. A) Segmento de EEG de 8 segundos de duración que exhibe artefactos oculares (en los electrodos FP1-F4) y de pulso cardiaco (electrodo F8) (solo se muestran los 8 primeros canales de los 19). B) Componentes independientes encontradas por ICA (se muestran solo los 4 primeras de las 19). Las componentes #1 y #3 captan correctamente las series temporales de los artefactos oculares y de pulso cardiaco, respectivamente. Sin embargo, hay una cantidad considerable de actividad cerebral que “se cuela” en esas componentes. C). Ampliación de los episodios de artefacto ocular (FP1) y pulso cardiaco (F8) en control y corregido por ICA y wICA. Los artefactos simulados se muestran en línea discontinua en gris. Para ambos

tipos de artefacto las señales corregidas por ICA se desvían de la de referencia mucho más fuertemente que las corregidas por wICA.

b) Distorsión del espectro de potencias y coherencia

El primer paso es derivar la distorsión espectral y de la coherencia que introducen los métodos. Por definición, el espectro de potencias de una señal, $y(t)$, está dada por la transformada de Fourier de su función de auto-covarianza $C_{yy}(\tau) = \langle y(t)y(t-\tau) \rangle$:

$$P_{yy}(\omega) = \int C_{yy}(\tau) e^{-i\omega\tau} d\tau .$$

Podemos representar la señal corregida por ICA o wICA como $\hat{x}_j(t) = r_j(t) - m_{j1}n(t)$, donde $r_j(t)$ es la señal libre de artefactos y $n(t)$ la actividad neuronal residual. La covarianza puede representarse por tanto como:

$$C_{r_j n}(\tau) = C_{\hat{x}_j a}(\tau) + m_{j1} C_{nn}(\tau) \quad (6.1)$$

Si tenemos en cuenta que en una primera aproximación el artefacto no está correlacionado con la actividad neuronal, por tanto $C_{\hat{x}_j a}(\tau) = 0$, y que las componentes son independientes tenemos que $C_{\hat{x}_j s}(\tau) = 0$. Por tanto, la ecuación (6.1) se reduce a $C_{r_j n}(\tau) = m_{j1} C_{nn}(\tau)$. La auto-covarianza del EE corregido por ICA en el electrodo j-ésimo viene dada por:

$$C_{\hat{x}_j \hat{x}_j}(\tau) = C_{r_j r_j}(\tau) - 2m_{j1} C_{r_j n}(\tau) + m_{j1}^2 C_{nn}(\tau)$$

donde C_{yz} denota la función de covarianza de las señales $y(t)$ y $z(t)$. Empleando esta expresión de la covarianza obtenemos que el espectro de un EEG corregido por ICA es:

$$P_{\hat{x}_j \hat{x}_j}(\omega) = P_{r_j r_j}(\omega) - m_{j1} m_{k1} P_{nn} .$$

De esta expresión podemos concluir que la distorsión de la señal en el electrodo j-ésimo introducida por ICA está dada por:

$$\Delta P_j(\omega) = -m_{j1}^2 P_{nn}(\omega)$$

donde m_{j1} es el peso correspondiente en la matriz de composición M , y $P_m(\omega)$ es el espectro de la actividad cerebral que persiste en la componente independiente.

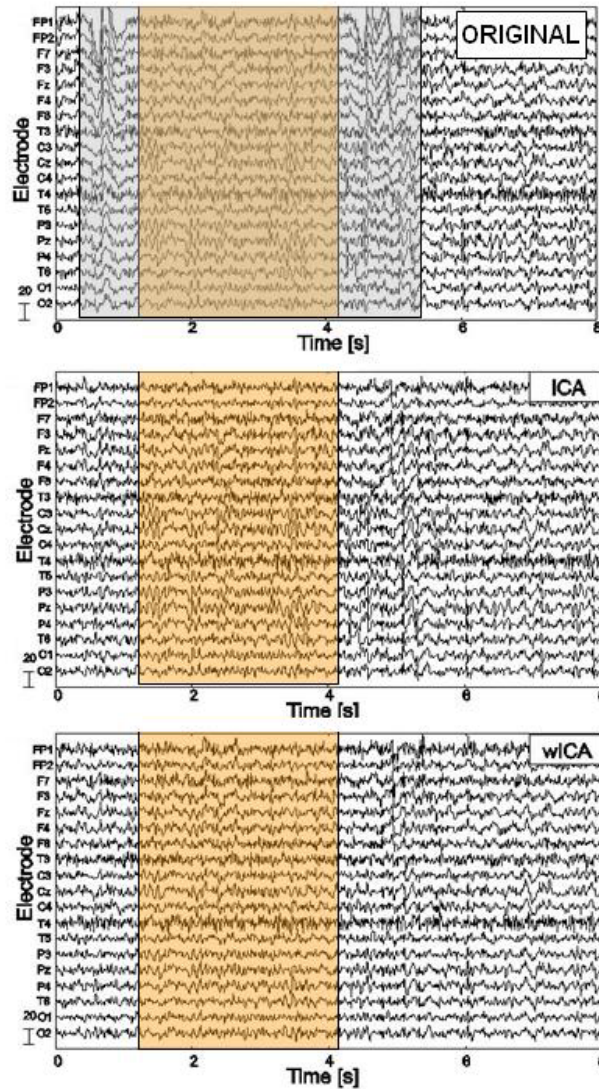


Figura 33: Selección de la época de EEG considerada para la estimación de las componentes y sobre la que vamos a evaluar la eficacia en la supresión de artefactos (recuadrada en gris). Designación de los segmentos control (libres de artefactos) y los correspondientes en la señal corregida por ICA y wICA sobre los que vamos a evaluar la distorsión introducida en el dominio de tiempo y de frecuencia (recuadrada en naranja).

Estudiamos sobre EEG reales la distorsión en el espectro de potencias de la actividad cerebral que introduce la supresión de artefactos. La distorsión de la señal que hemos cuantificado anteriormente (tabla 1) tendrá por lo general un efecto sobre el espectro de potencias de la señal cerebral:

$$P_{\bar{x}\bar{x}}(\omega) = P_{rr}(\omega) + \Delta P(\omega)$$

donde $P_{rr}(\omega)$ es el espectro de potencias de referencia de la señal libre de artefacto, $P_{\bar{x}\bar{x}}(\omega)$ es el espectro de la señal procesada por ICA o wICA, y $\Delta P(\omega)$ es la distorsión introducida por los métodos y que idealmente debería ser igual a cero.

De acuerdo con la expresión de $\Delta P(\omega)$ el espectro de potencias de las señales registradas por todos los electrodos en un EEG corregido por ICA estarán infra-estimadas con la misma función espectral, $P_{nn}(\omega)$, pero con diferentes factores, m_{j1}^2 . Debido a que m_{j1}^2 decae con j para el artefacto ocular (Fig. 30C), la distorsión espectral será mayor en los electrodos frontales. El algoritmo wICA reduce drásticamente la actividad cerebral residual en la componente designada como responsable del artefacto por lo que Pnn decrece fuertemente y por tanto proporciona potencialmente una mejor aproximación al espectro de potencias de un EEG libre de artefacto.

Para cuantificar el grado de distorsión espectral introducido por los métodos de supresión de artefacto sobre las diferentes bandas de frecuencia, calculamos la densidad de potencia media promediando sobre diez épocas y convirtiéndolo a decibelios, para los segmentos de referencia (control, segmentos enmarcados en el cuadro naranja en la figura 33) y después de la supresión de artefactos con ICA y wICA. Repetimos el mismo procedimiento cambiando la longitud de los datos usado para la descomposición de ICA (longitud del segmento enmarcado en un cuadro gris en la figura 33), pero manteniendo los mismos límites temporales para la época control (segmentos anaranjados en la figura 33). La tabla 3 recoge los resultados.

Mean power density in FP1 channel evaluated for the control and after artifact suppression by ICA and wICA using the same data epochs

Frequency band	Power density (dB) control	Artifact rejection method	Segment length for evaluation of independent components, Power density (dB)				
			4 s	8 s	10 s	15 s	25 s
Theta (4–8 Hz)	21.0	ICA	18.8	16.7	16.6	15.9	15.5
		wICA	20.5	20.4	20.3	19.8	18.9
Alpha (8–13 Hz)	17.9	ICA	16.4	14.2	14.1	13.4	13.2
		wICA	17.8	17.7	17.7	17.6	17.5
Beta (13–30 Hz)	16.1	ICA	13.2	11.7	11.8	10.5	10.3
		wICA	16.1	16.0	16.0	16.0	15.9
Gamma (> 30 Hz)	8.6	ICA	5.2	3.6	3.8	2.4	2.1
		wICA	8.6	8.7	8.7	8.7	8.6

Tabal 3: Densidad de potencia media para la señal registrada por el electrodo FP1 evaluada sobre el segmento control y el mismo después de suprimir los artefactos con ICA y wICA.

La distorsión del espectro que introduce ICA (la diferencia entre la densidad de potencia evaluada sobre la señal corregida por ICA y la señal libre de artefacto) incrementa con la longitud de los datos usados para la estimación de la matriz de composición y las componentes independientes. Con respecto a las bandas de frecuencias, las bandas Theta y Alpha son las menos afectadas, mientras que Beta y Gamma sufren más la distorsión. Por otro lado, wICA preserva la señal mejor que ICA en las ventanas de tiempo libres de artefacto y conlleva un error considerablemente menor en la estimación del espectro. Se observa una ligera distorsión en la banda Theta, mientras que en las demás bandas la densidad es prácticamente igual a la densidad en control. De igual forma que con ICA observamos una ligera disminución del rendimiento al aumentar la longitud de los datos considerados para la estimación de las componentes independientes. Recomendamos el uso de segmentos de longitud no superior a 15 segundos. Fijando la longitud a 10 segundos (la longitud recomendada para la aplicación de ICA, Jung *et al.*, 2000a) tenemos que el valor absoluto de la distorsión espectral, dado por:

$$|\Delta P| = |P_{ICA/wICA} - P_{control}|$$

sobre las bandas Theta, Alpha, Beta y Gamma es 4.4, 3.8, 4.3 y 4.8 dB para ICA, y 0.7, 0.2, 0.1 y 0.1 dB para wICA. Notar que, como se predecía en (13), el espectro del EEG corregido por ICA es siempre menor que el espectro en control.

Una vez cuantificada la distorsión que sufre el espectro de potencias un paso inmediato pero sin embargo no estudiado hasta el momento es estudiar cómo la supresión de artefactos afecta a los resultados de la inferencia de la interacción (circuito) entre señales registradas por diferentes electrodos.

En el caso más simple, la sincronía entre diferentes electrodos es capturada por la evaluación de la coherencia espectral directa y parcial (SC y PSC). La figura 34 muestra un ejemplo de la SC evaluada para el par de electrodos FP1 y F7 en control (usando épocas libres de artefacto) y después de la supresión de artefactos con ICA y wICA. Sobre cada gráfica

representamos también el nivel de significancia estadística obtenido sobre los datos barajados. La coherencia en una banda de frecuencia dada por encima del nivel de los datos barajados puede considerarse significativa y podemos concluir positivamente sobre la asociación funcional entre dichos canales.

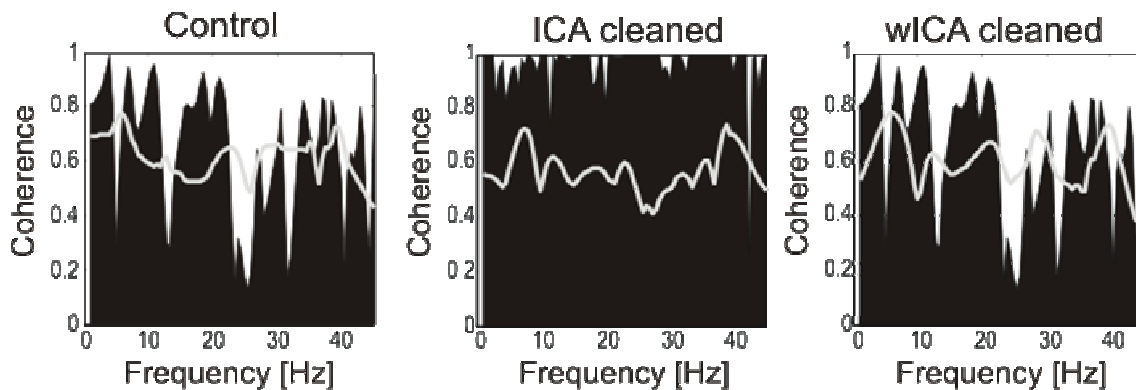


Figura 34: Coherencia espectral párale par de electrodos FP1 y F7 evaluada sobre control y después de la supresión de artefactos con ICA y wICA. Las curvas en blanco marcan el nivel de significancia estadística obtenidos sobre datos barajados. EL EEG corregido por ICA presenta una coherencia sobre-estimada.

La coherencia calculada sobre el EEG corregido por ICA es significativamente mayor que en control para todas las bandas de frecuencias. Esta sobreestimación podría llevar a una hiper-conectividad espuria, es decir a un falso positivo en la conclusión de la interacción entre las correspondientes áreas corticales. La supresión del artefacto por el algoritmo wICA ofrece una menor distorsión de la amplitud y fase y obtenemos una estimación de la coherencia muy similar a la obtenida en control (Fig. 34A y C).

Ahora testamos cómo los resultados de la supresión de los artefactos afectan a la identificación del patrón de conectividad entre las señales de EEG. Para concluir positivamente en la presencia de conexión entre pares de electrodos evaluamos la elevación de la PSC sobre el nivel de significancia estadística proporcionado por los datos barajados, de forma similar a la coherencia ordinaria representada en la Figura 34. Si la elevación es positiva, este valor cuantifica el grado de sincronía entre las áreas corticales teniendo en cuenta la dinámica observada en los otros electrodos. La Figura 35 muestra el grado de sincronía calculado para los EEG corregidos por ICA y wICA relativo al nivel de coherencia en control. Ningún trazo que conecte dos áreas

corticales supone una perfecta concordancia con el circuito en control, mientras que un trazo rojo o azul conectando dos puntos significa una hiper- e hipo-conectividad, respectivamente. Los datos procesados por ICA en general conllevan una hiper-conectividad sobre todas las bandas de frecuencia (ver también la figura 34). La aplicación de wICA mejora considerablemente la predicción proporcionando únicamente unos pocos trazos espurios en las bandas Theta y Alpha.

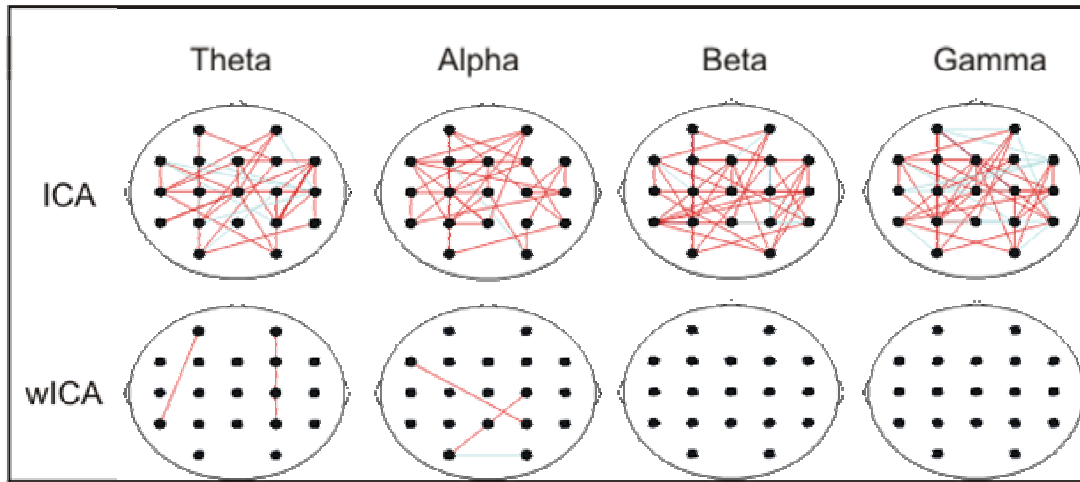


Figura 35: Grado de acoplo relativo entre áreas corticales hallado con la coherencia espectral parcial. Como referencia (nivel cero) usamos la coherencia evaluada sobre un segmento control. Las líneas rojas y azules muestran respectivamente hiper- e hipo- coherencia espuria. El grosor del acoplo define la fuerza de la asociación relativa entre las correspondientes áreas corticales.

Para profundizar en el problema de la hiper-conectividad después de la eliminación de artefactos con ICA (Fig. 35) consideramos el caso en el que las señales de origen neuronal de dos electrodos están estadísticamente no relacionadas, $r_j(t)$ y $r_k(t)$, que consecuentemente deben tener una correlación cruzada y coherencia nula. La aplicación de ICA nos dará:

$$\hat{x}_k(t) = r_k(t) - m_{k1}n(t), \quad \hat{x}_j(t) = r_j(t) - m_{j1}n(t)$$

Donde las variables marcadas con ^ corresponden a la señal de EEG corregida por ICA, $r_{j,k}(t)$ son las señales libres de artefacto, $a(t)$ la señal corrupta por el artefacto y $n(t) = S_1(t) - a(t)$ es la actividad neuronal persistente en la

componente independiente responsable del artefacto, $S(t)$. De la expresión de $\hat{x}(t)$ podemos ver que aunque la señal libre de artefacto $r_j(t)$ y $r_k(t)$ están descorrelacionadas sus partes procesadas por ICA, \hat{x}_j y \hat{x}_k se correlacionan debido a la presencia de un término común, $n(t)$. Usando la definición de coherencia espectral y la representación **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** de la señal obtenemos:

$$SC_{\hat{x}_j\hat{x}_k}(\omega) = \frac{P_{r_j r_k}(\omega) - m_{j1} m_{k1} P_{nn}}{\sqrt{P_{\hat{x}_j\hat{x}_j}(\omega) P_{\hat{x}_k\hat{x}_k}(\omega)}}$$

De aquí que tenemos una coherencia espuria diferente de cero:

$$|SC(\omega)| = \frac{m_{j1} m_{k1} P_{nn}}{\sqrt{P_{\hat{x}_j\hat{x}_j}(\omega) P_{\hat{x}_k\hat{x}_k}(\omega)}} \geq 0$$

Por tanto cuando la actividad neuronal residual que persiste en la componente independiente responsable del artefacto no es nula, la coherencia espectral (así como la coherencia espectral parcial) pueden sobreestimarse después de la supresión de artefactos con ICA (Fig. 35). El algoritmo wICA recupera la actividad neuronal persistente en la componente por lo que mejora los resultados de la estimación de la coherencia.

6.2.2 Circuitos cortico-corticales

Una vez aplicado el método wICA de eliminación de artefactos podemos trabajar con las señales de EEG en la determinación de los circuitos cortico-corticales. Contamos con una base de 25 sujetos control y 10 pacientes que han sufrido algún tipo de daño cerebral, a partir de los cuales pretendemos estudiar las características discriminantes en el circuito entre ambas poblaciones.

Como hemos discutido en la sección anterior recomendamos el método PSC por ser el más robusto en la determinación del patrón de conectividad global, distinguiendo entre las conexiones directas e indirectas. Sin embargo, no es posible extraer fácilmente la dirección del acoplo. En este sentido el método DTF proporciona los mejores resultados. Korzeniweska *et al.* (2005) propusieron el método dDTF como una técnica que combina las ventajas de los

métodos anteriores. Empleamos dDTF para hallar la conectividad cortico-cortical, cuyo procedimiento ilustramos con ejemplos de conectividad entre circuitos locales para sujetos ante los estados de reposo con ojos abiertos y cerrados.

En la representación de las curvas de conectividad proporcionadas por dDTF o PSC la gráfica situada en la fila i y columna j muestra el acoplo desde el electrodo i hasta el j . Las curvas en rojo marcan el nivel de independencia calculada utilizando el método datos barajados que nos permite concluir la existencia de interacción.

Centramos nuestra atención en la determinación del patrón de conectividad para ciertos electrodos seleccionados. Trabajamos con dos conjuntos de electrodos; por una parte hallaremos la conectividad entre los electrodos Pz, P4, T6 y O2 y por otra consideramos el conjunto FP1, F7, F3, Fz, P4, T6 y O2 que tiene en cuenta electrodos situados en posiciones distantes entre sí. Para este último conjunto de electrodos estudiamos el patrón de conectividad funcional determinado por el método dDTF como puede verse en la figura 2. Los electrodos situados en posiciones cercanas están sincronizados (hay conexión entre las correspondientes zonas corticales) pero no establecen ninguna interacción con los electrodos distantes.

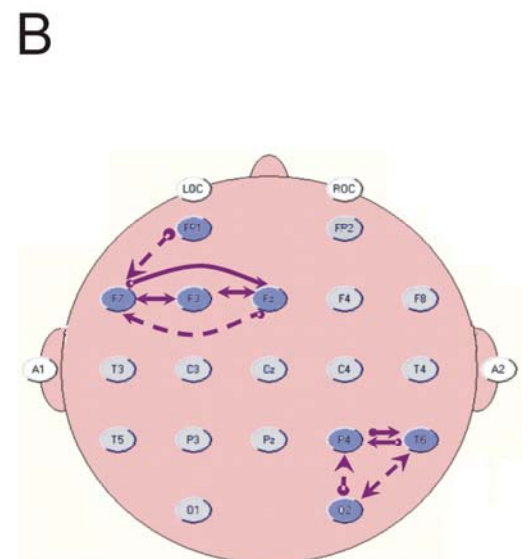
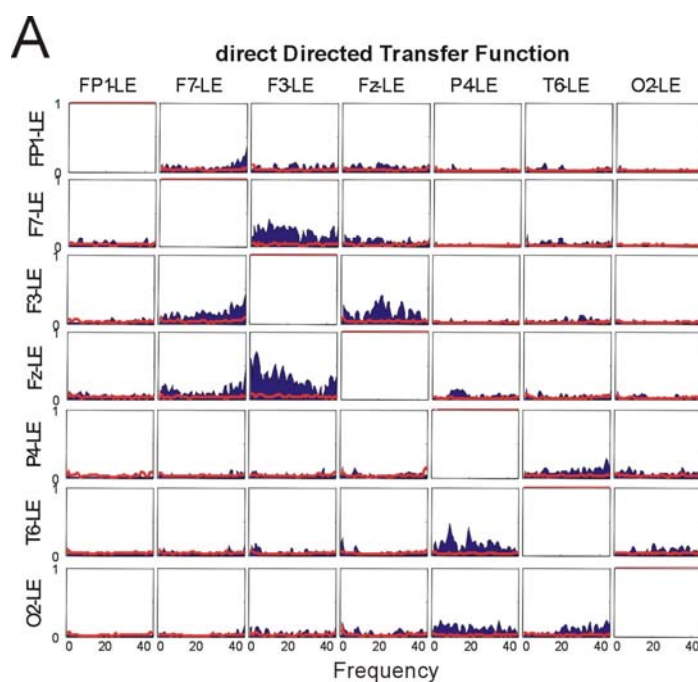


Figura 36. A) Representación gráfica de los resultados de la aplicación del método dDTF para el conjunto de electrodos FP1, F7, F3, P4, T6 y O2. B) Circuito funcional detectado por el método sobre las posiciones de los electrodos. El grosor de la línea de interacción simboliza la fuerza de acoplo entre los pares.

Diferencias en el acoplamiento: ojos abiertos - cerrados

Debido a que trabajamos con los EEGs cuando el paciente tiene los ojos abiertos y cuando los tiene cerrados es interesante observar las variaciones relativas a los electrodos en la posición occipital (en este caso O2), como podemos ver del estudio de la topología de los electrodos Pz, P4, T6 y O2.

La figura 36 muestra el análisis del registro del sujeto con los ojos abiertos. La topología encontrada por los métodos de la coherencia parcial y dDTF coincide, sin embargo dDTF nos proporciona además la dirección del acoplo (pueden verse las puntas de flechas en el circuito de la figura). Ambos métodos detectan una interacción débil entre los electrodos Pz y O2 que sabemos que esta dirigida desde la región occipital a la parietal. Para los demás pares de canales el acoplo puede considerarse fuerte, ya que como vemos en las gráficas las funciones para ambos métodos superan considerablemente el valor umbral de independencia para varias frecuencias.

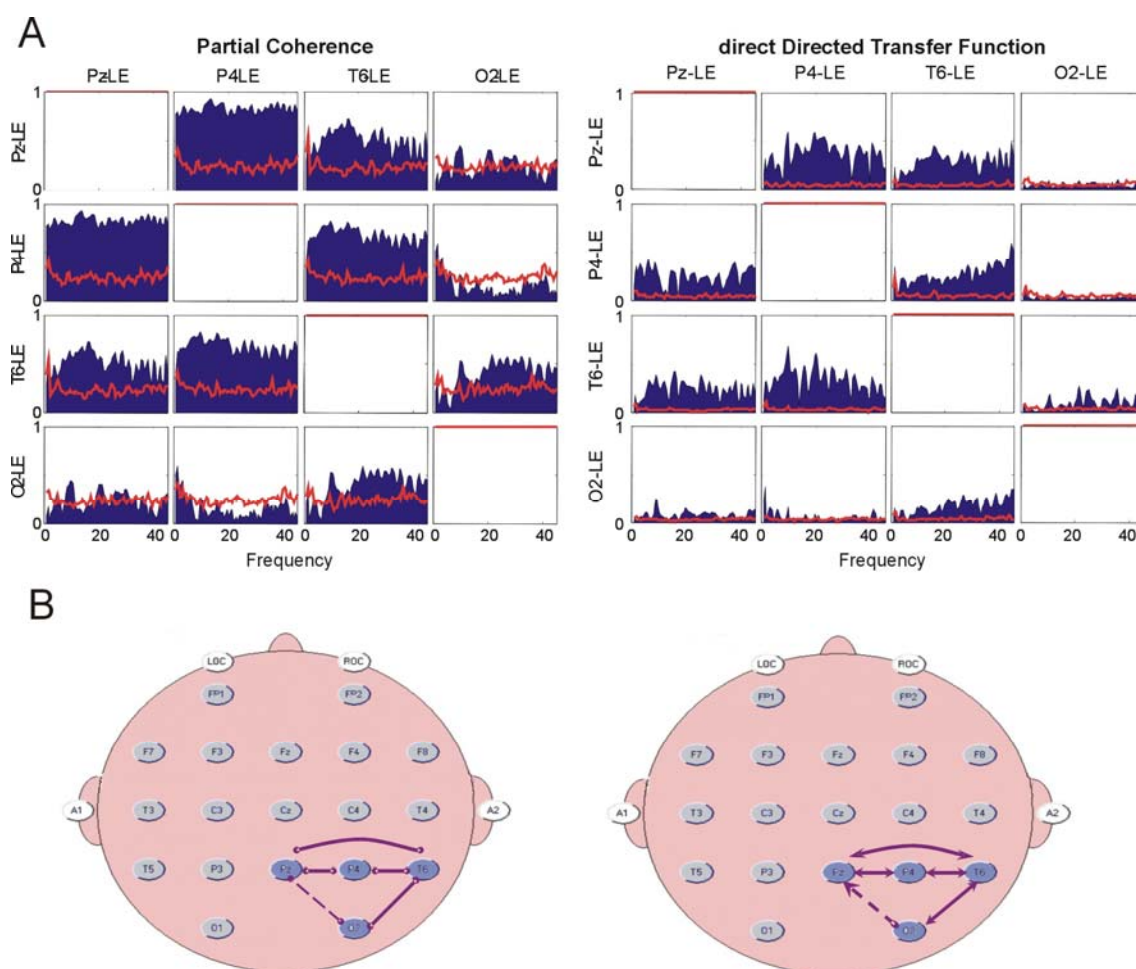


Figura 37. A) Representación gráfica de la coherencia parcial y dDTF para el conjunto de electrodos Pz, P4, T6 y O2 para el paciente con los ojos abiertos. B) Representación sobre las posiciones de los electrodos los circuitos funcionales encontrados por ambos métodos.

Para ver las diferencias respecto al sujeto con los ojos cerrados nos fijamos en la figura 37 y la comparación dada en la figura 38. En este caso los métodos de coherencia parcial y dDTF difieren en la interacción entre los pares Pz y O2. Como vemos en la figura la coherencia parcial desprecia tal conexión y dDTF la considera aunque de forma débil. Sigue apreciándose conexión desde el electrodo O2 hasta los electrodos Pz y T6 pero esta última se debilita. Respecto a las diferencias con el caso anterior vemos que aunque las gráficas son muy similares, hay variaciones que se centran en el electrodo O2 como cabría esperar ya que se refiere a la corteza visual.

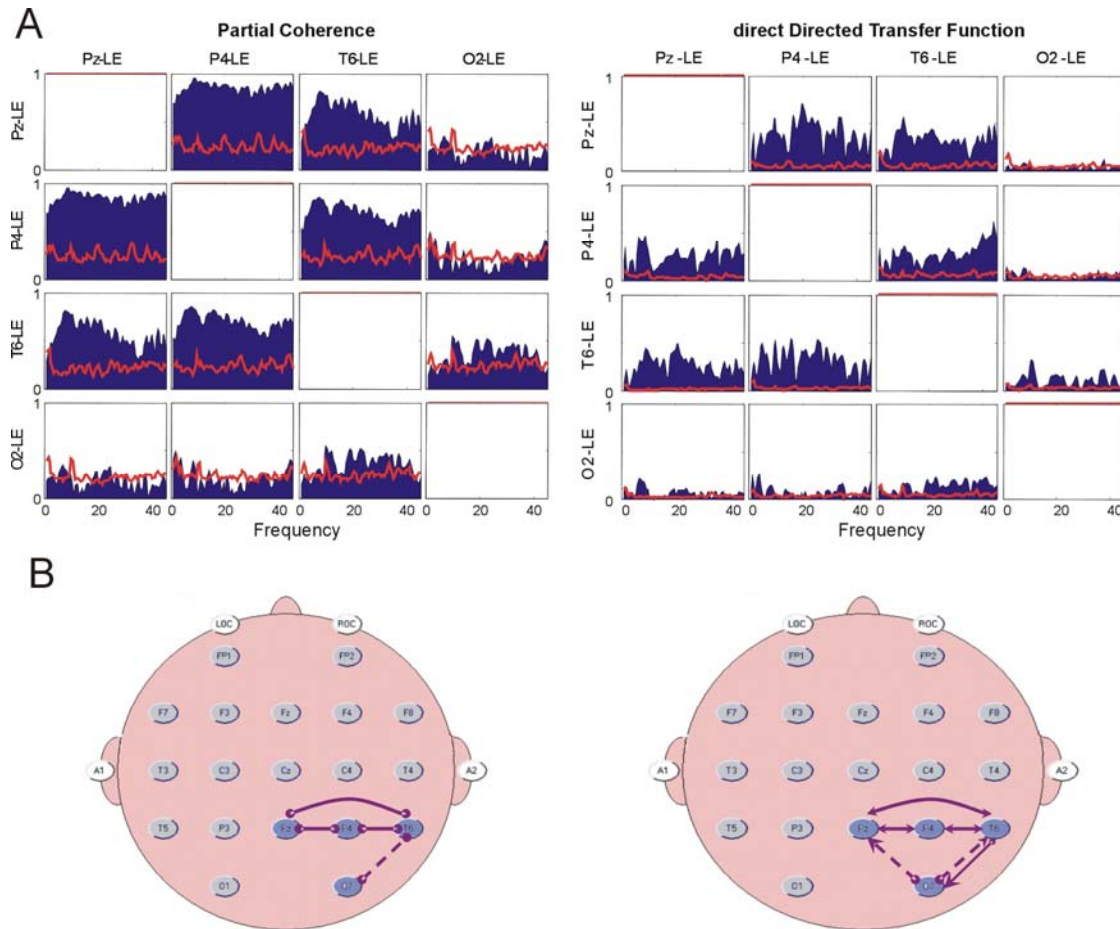


Figura 38: El mismo esquema de gráficas que la figura 2 para el caso del paciente con los ojos cerrados. Notar las diferencias topológicas en torno al electrodo O2.

6.2.2 Discriminación de estados

Recuperando el objetivo final de nuestro trabajo, discriminar entre sujetos control y pacientes como primer paso y discriminar diferentes niveles de profundidad de daño cerebral como objetivo último, nos planteamos estudiar si el circuito es una característica discriminante de dichos estados. Es decir, una vez hallados los circuitos para la población de sujetos control y de pacientes es necesario aplicar alguna medida capaz de evidenciar las diferencias entre ambas poblaciones. La medida propuesta es el Análisis Discriminante Lineal (LDA) por ser una herramienta de agrupamiento. Aplicamos LDA a ambas poblaciones (sujetos control – pacientes) para estudiar su discriminación. El siguiente diagrama resume nuestro dilema.

Aplicamos LDA a los circuitos obtenidos a partir de 10 sujetos control y 10 pacientes. La siguiente gráfica muestra la variable de Fisher para cada circuito (Fig. 39). En rojo se han representado los pacientes y en verde los sujetos control. Como puede verse la separación es clara. Hemos remarcado las diferencias agrupando cada población en un círculo. En este caso hemos trabajado con la conectividad funcional para los rangos de frecuencia Theta y Beta. Este análisis nos permite, además, saber que pares de electrodos son más importantes para la discriminación. Nuestros resultados muestran que las parejas de electrodos significantes en la discriminación son $Pz \rightarrow P4$, $T6 \rightarrow P4$, $P3 \rightarrow T5$ y $C4 \rightarrow P4$.

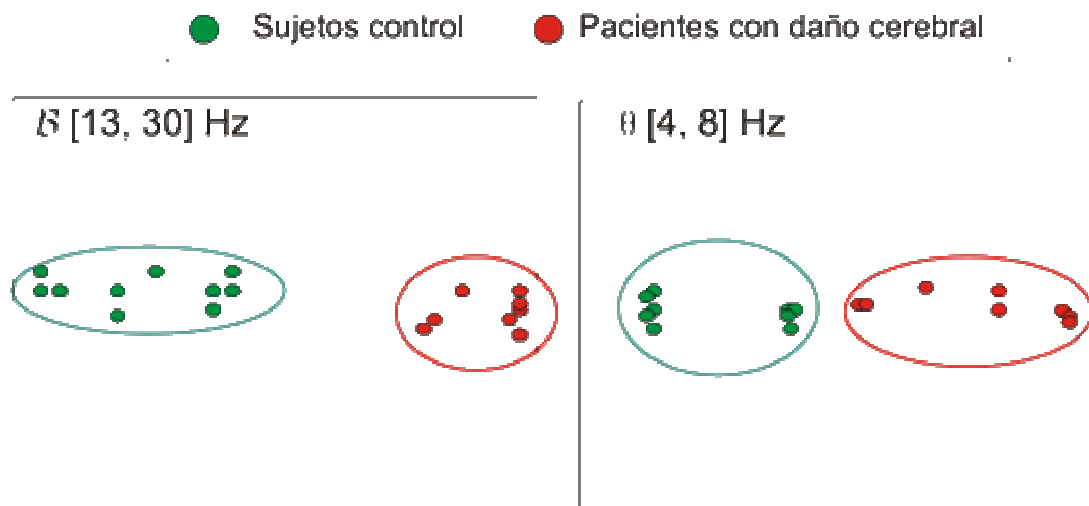


Figura 39: Análisis Discriminante Lineal (LDA) para las poblaciones de sujetos control (verde) y pacientes (rojo). La separación entre los circuitos de ambas poblaciones es clara. Cada población puede reagruparse definiendo un grupo de similares características.

6.3 Interacción entre las áreas visuales de los dos hemisferios cerebrales dependiente del estímulo

Dando un paso más en la escala espacial de los registros electrofisiológicos trabajamos a media escala con los LFP registrados en la corteza visual del hurón. Sin embargo estudiamos un circuito a gran escala: la interacción inter-hemisférica y local en el procesamiento de la información visual. En el sistema visual la representación de la retina se divide entre los dos hemisferios a lo largo de la línea correspondiente a la decusación naso-temporal de los axones de las células ganglionares en el quiasma.



Figura 40: Representación de la escena visual de la retina que se divide entre los dos hemisferios a lo largo de la línea media. Estudiamos el papel de las conexiones entre las áreas visuales de los dos hemisferios para restablecer la continuidad funcional entre las dos hemi-representaciones del campo visual.

Esta línea carece de forma (un-sharp) y, por tanto en ambos hemisferios está representada una ancha franja del campo visual a lo largo de la línea

media. Una pregunta inmediata (por ejemplo, Hubel y Wiesel 1967; Berlucchi 1972; Payne *et al.* 1991; Ptito 2003) es si la representación bilateral de esta porción ancha de la retina es suficiente para restablecer la continuidad funcional entre las dos hemi-representaciones del campo visual o si se requiere de conexiones entre las áreas visuales de los dos hemisferios. La organización anatómica de la conexión dada por el cuerpo calloso parece apoyar la última opción.

En todas las especies, incluido el hurón con el que hemos trabajado, y en áreas que contienen mapas retinotópicos, las conexiones callosas se encuentran principal o exclusivamente cerca de la representación de la línea media del campo visual (Innocenti, 1986; Manger *et al.*, 2002). Consistentemente a la anatomía, las neuronas que proyectan sus axones en el cuerpo calloso tienen campos receptivos que involucran la línea media del campo visual (Hubel y Wiesel 1967; Berlucchi *et al.*, 1967; Shatz 1977; Innocenti 1980; Lepore y Guillemot 1982). Se cree que las conexiones callosas realizan, a lo largo de la línea media del campo visual, funciones similares a aquellas realizadas en otros lugares del campo visual mediante conexiones entre áreas. Esto está apoyado por el hecho de que la topografía funcional de las conexiones callosas es parecida a la de las conexiones entre áreas; ambas conectan predominantemente neuronas con una orientación preferentes (Schmidt *et al.*, 1997). En este trabajo pretendemos evaluar el papel de la interacción inter-hemisférica, en la integración de respuestas a lo largo de la línea media del campo visual estudiando las consecuencias de la desactivación de las áreas visuales del hemisferio contralateral (siguiendo el protocolo de Payne *et al.*, 1991). Para comparar los resultados con trabajos anteriores usamos tres tipos de estímulo visual: pequeños destellos cuadrados (siguiendo el protocolo de Nakamura *et al.*, 2007) y barras de idéntica o diferente orientación en los dos hemicampos (siguiendo los protocolos de Kiper *et al.*, 1999; Carmeli *et al.*, 2005; Knyazeva *et al.*, 2006).

Abarcamos el estudio de la interacción a gran escala, inter-hemisférica mediada por el cuerpo calloso y a escala local en el sistema visual empleando por una parte las herramientas vista hasta ahora y por otra desde el punto de vista deductivo a partir de las propiedades estadísticas de los registros LFP.

Para poder estudiar cómo las áreas visuales de los dos hemisferios cerebrales interaccionan en el procesamiento de un estímulo visual hemos registrado los potenciales de campo locales (LFP, de sus siglas en inglés) en las zonas conectadas por el cuerpo calloso de las áreas 17 y 18 del hurón (Fig. 41B) durante la presentación de tres tipos de estímulo (Fig. 41A).

Estimulación S1: Pulsos cuadrados de luz brillante a una intensidad lumínica de 2.5 deg, de duración 50 ms con un intervalo entre estímulos de 0.5 s con una posición al azar en una cuadrilla de 10 x 10 elementos, cubriendo 25 deg en la posición central del campo visual. Repetimos la secuencia de estimulación 10 veces con un intervalo de 2 s.

Estimulación S2: Barras sólidas en cuatro orientaciones diferentes con un paso de 45° en sentido horario e idénticas en los dos hemicampos.

Estimulación S3: El mismo protocolo de S2 pero la orientación y/o dirección del movimiento es diferente para cada hemicampo. Los estímulos permanecen estacionarios durante 0.5 s después se mueven en una de las dos direcciones perpendiculares a sus orientaciones durante 3 s seguidas de 3 s de exposición al monitor en gris equiluminiscente. Las barras tienen una frecuencia espacial de 0.1 ciclos/deg y una velocidad de 14 deg/s.

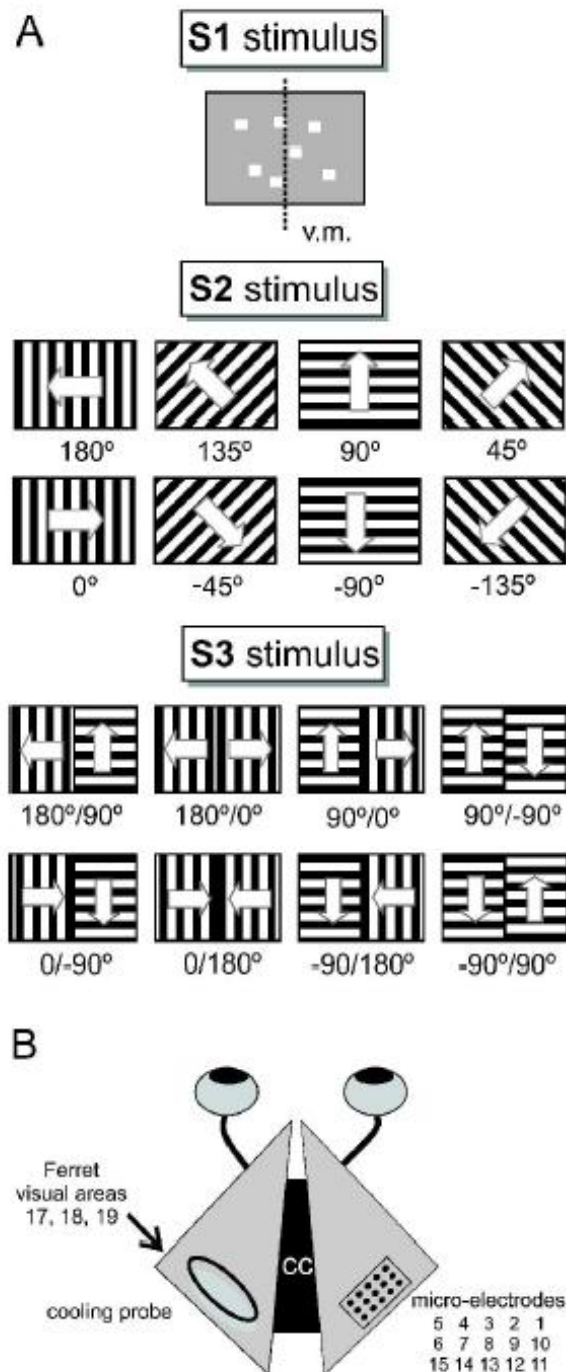


Figura 41: Montaje experimental. A) Estímulo visual empleado. S1: Pulsos cuadrados de luz brillante con una posiciones al azar en una cuadrilla de 10 x 10 elementos. S2: barras sólidas en cuatro orientaciones diferentes con un paso de 45° en sentido horario e idénticas en los dos hemisferios. S3: El mismo protocolo de S2 pero la orientación y/o dirección del movimiento es diferente para cada hemisferio. B) Introducción de una matriz de 15 micro-electrodos en la corteza occipital del hemisferio derecho del hurón. Los electrodos cubren un rectángulo de 1640 x 820 μm y están espaciados en intervalos de 410 μm . Un metal de 3 mm x 6 mm situado sobre la correspondiente posición del hemisferio contralateral congela la zona.

Respuesta al estímulo S1

Reconstruimos la respuesta al estímulo S1, para las 10x10 posiciones en las que se ha presentado y cada una de las localizaciones de registro de los electrodos (45 con respuesta), como promedio de la actividad en las 10 repeticiones de cada estímulo. Las respuestas (Fig. 42) consisten en LFP de componente negativa cuya amplitud depende de la localización del estímulo, definiendo así el campo receptivo periférico (PRF). En el territorio cortical cubierto por los multi-electrodos la posición de los PRF cambia, en elevación y azimut, tal y como se esperaba según los mapas retinotopicos de las áreas 17 y 18 (Manger *et al.*, 2002). Es decir, la elevación del PRF se incrementa en la dirección medial a lateral y el azimut decrece en la dirección posterior a anterior hasta un mínimo, correspondiente a la línea media del campo visual y al borde entre las áreas 17 y 18 e incrementó en el área 18 (Fig. 43). Debido a la parálisis los ojos pueden encontrarse desalineados y cuando este fenómeno no se compensa se pueden definir dos PRF separados, uno para cada ojo y donde el de mayor respuesta corresponde a la estimulación del ojo contralateral (Fig. 43). La respuesta en los LFPs comienza con una latencia en el rango de 24-37 ms, siendo más corta cerca del centro del PRF y mayor en la periferia, lo que concuerda con los trabajos de Nakamura *et al.* (2007). La componente negativa del LFP dura entre 80 y 120 ms, seguida de una componente positiva de mayor duración.

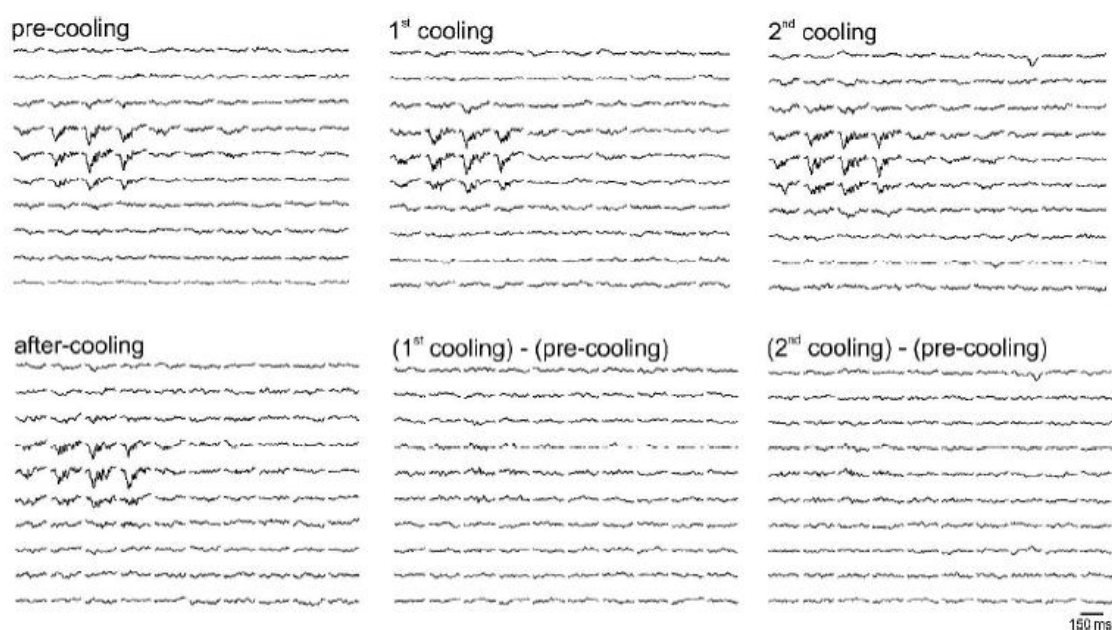


Figura 42: Respuesta al estímulo S1 antes, durante y después de la congelación del hemisferio contralateral. En cada posición del estímulo S1 se generó un conjunto de LFP de diferentes amplitudes, que definían el campo receptivo periférico (PRF). (Véase también la figura Fig. 43). Ni la localización de los PRF, ni la amplitud y forma de los LFPs cambian debido a la congelación del hemisferio contralateral. Como se esperaba, la resta de las respuestas obtenidas antes de la congelación (pre-cooling) de aquellas obtenidas después de la primera y segunda congelación es prácticamente plana.

La congelación del hemisferio contralateral no afectó la respuesta al estímulo S1, tal y como podemos ver en la figura 42 donde se muestra la resta de las respuestas antes y durante la congelación que resultó en trazos prácticamente planos (Fig. 42). Para testar la posibilidad de cambios más sutiles, se aplicó separadamente a cada LFP registrado en cada posición de estimulación un test de 50-50 MANOVA. Este Se encontró cambios significativos en 58 de 479 localizaciones de estimulación que pertenecían al PRF. Desafortunadamente, la mayoría de esos cambios no se recuperaron después de la congelación. Además, se encontraron cambios significativos fuera del PFR en un número significativo de casos (152 de 2521). Finalmente, usando el método de tasa de falsos descubrimientos en control para errores de tipo I solo 4 de las 58 respuestas en el PRF mantuvieron sus cambios significativos después de la congelación. En el mismo experimento que el mostrado en la figura 2 y con la misma localización del micro-electrodo la congelación provocará un decremento de la respuesta durante la estimulación con el protocolo S2 (tal y como se mostrará en la figura 45).

En conclusión, la señal de entrada de las áreas visuales contralaterales no contribuye significativamente al PRF definido con estímulos de flashes discretos cerca de la línea media del campo visual, como ya se sugirió en trabajos anteriores realizados con estudios de imagen óptica y LFPs (Nakamura *et al.*, 2007). Estímulos discretos de corta duración no parecen ser procesados a través de la interacción inter-hemisférica en las áreas visuales primarias. Esto sugiere que la interacción inter-hemisférica en las áreas visuales primarias es específica para cada estímulo.

Coincidiendo con los trabajos de Payne *et al.* (1991), al eliminar la señal de entrada proveniente del hemisferio contralateral no se suprime la respuesta al

estímulo visual, sino que se modifica de una forma más compleja. Es decir, la señal de entrada desde el cuerpo calloso interfiere a la tálamo-cortical, al menos en las áreas visuales primarias. Esto podría ser un principio común en la función del cuerpo calloso, en las áreas sensoriales primarias, como se ha visto en las áreas somatosensoriales en gatos, roedores y humanos (Innocenti *et al.*, 1973; Fabri *et al.*, 2006; Li y Ebner 2006). El papel modulador de la conexión inter-hemisférica es consistente con la morfología de los axones callosos en gato (Tettoni *et al.*, 1998).

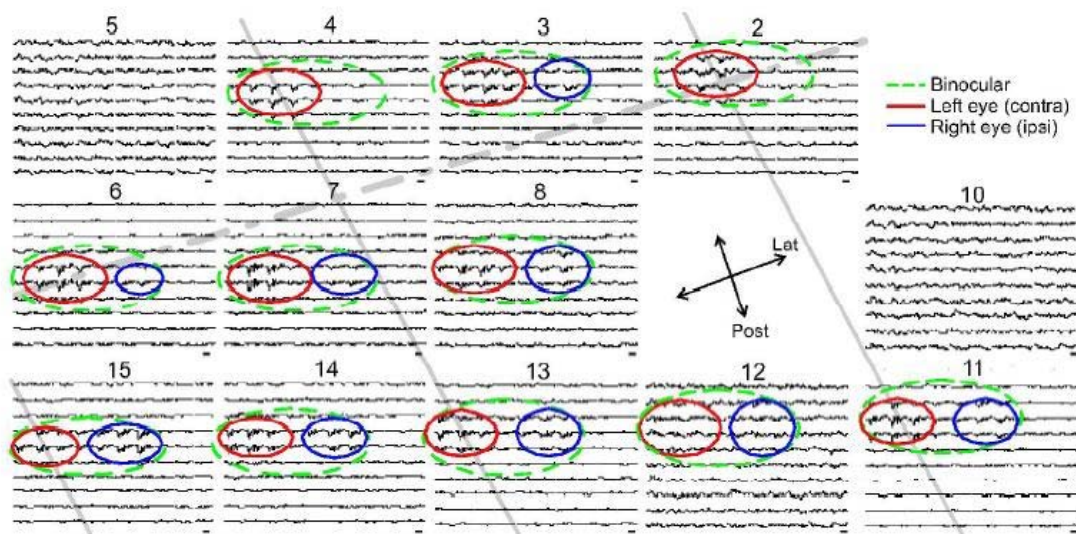


Figura 43. Ejemplos de respuesta al estímulo S1. En cada posición del micro-electrodo (numeradas como muestra la figura 41) S1 genera un conjunto de potenciales de campo locales (LFP) de diferente amplitud, que conforman el campo receptivo periférico (PRF), que aproximamos a un contorno circular en la figura. Cuando los ojos están desalineados, debido a la parálisis, pueden identificarse dos PRF binoculares en los cuales podemos identificar dos centros del campo receptivo para el ojo izquierdo (contralateral) y derecho (ipsilateral). Notar que en la región cubierta por la matriz de micro-electrodos la localización de los PRF cambia como era de esperar por la retinotopia global de las áreas visuales del hurón; es decir, el meridiano vertical (línea gris discontinua) recorre paralelamente la dirección medio-lateral y las líneas de iso-elevación en la dirección anteroposterior (línea gris delgada). En cada posición del electrodo la barra de calibración horizontal es de 75 ms (la duración completa del trazo es de 200 ms).

Respuesta al estímulo S2

Hemos registrado respuesta al estímulo S2 en 107 localizaciones de micro-electrodos en 9 experimentos, y en cada localización para 8 orientaciones y direcciones de movimiento de las barras (Fig.41). La mayoría de las respuestas consisten en dos ondas negativas (Fig. 44). La primera, y más larga de las ondas corresponde a la presentación del estímulo estático y en la mayor parte de los casos (63%) consiste de dos picos denotados como N1 y N2 (Fig.44A). En promedio N1 tiene una latencia de 23.0 ± 6.8 ms y alcanza el valor más profundo del pico a los 36.3 ± 11.0 ms después del comienzo del estímulo; su duración es de 25.0 ± 8.4 ms. N2 se origina en la fase de caída de N1, y alcanza su pico de valor más profundo a los 60.9 ± 12.2 ms del comienzo del estímulo y tiene una duración de 56.8 ± 20.6 ms. La amplitud de los picos N1 (-242.8 ± 230.0 μ V) y N2 (-148.0 ± 110.0 μ V) varia a lo largo de los experimentos y ocasionalmente N2 podría estar ausente. La segunda onda negativa provocada por el estímulo S2 dinámico ocurre con una latencia de 53.2 ± 48.2 ms, respuesta negativa dinámica que denotamos como DN. En la mayoría de los experimentos consiste de un pico único y negativo cuyo valor más profundo se alcanza a los 73.4 ± 43.8 ms y tiene una duración de 54.1 ± 30.9 ms. El pico DN es menor que los generados por la respuesta estática, con una amplitud de -81.9 ± 69.5 μ V, y más variable en amplitud y forma y a veces ausente (Fig. 44B).

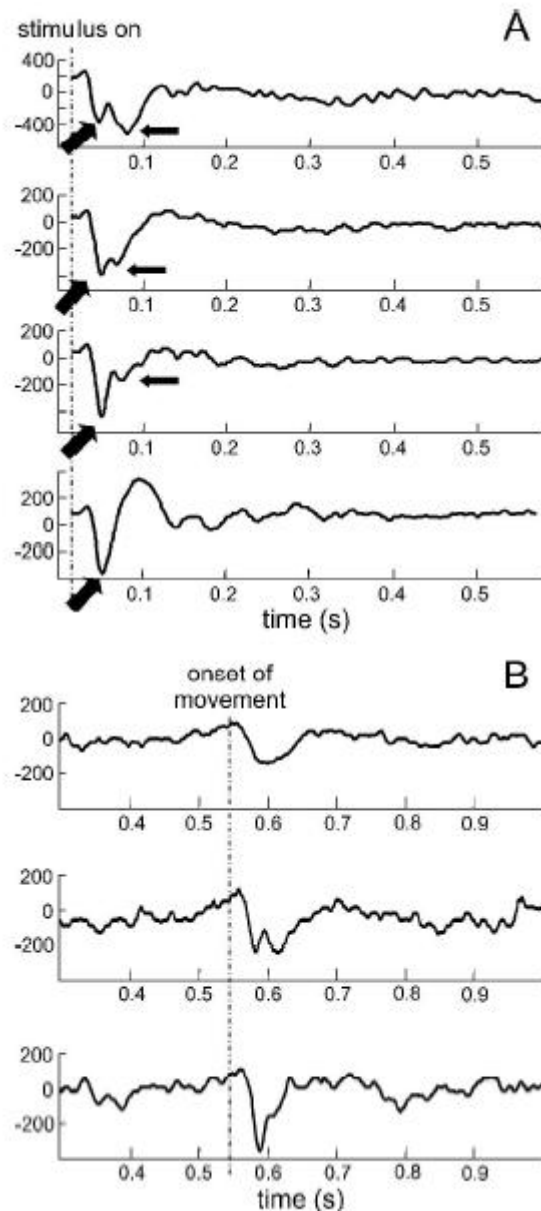


Figura 44: Tipos de LFPs obtenidos con los estímulos S2 o S3. El estímulo invariablemente genera un LFP respuesta cuando aparece en el campo visual. A) Respuesta al estímulo estático caracterizada por la latencia, tiempo en el que se alcanza el valor más profundo del pico y duración para los picos N1 (el primero) y N2 (segundo, a veces ausente). B) Respuesta al estímulo dinámico, consistente normalmente de un solo pico aunque a veces se observa un segundo.

La amplitud de N1 y N2 varía con la orientación al estímulo aunque también podría deberse a la posición de los contrastes sobre el campo receptivo más que a la orientación de las barras. La congelación del hemisferio contralateral afecta significativamente las amplitudes de N1 y/o N2 en el 52% de los 640 LFPs. Después de la congelación la respuesta se recuperó

completamente hasta niveles estadísticamente indistinguibles del control en el 27% de los casos ($p < 0.05$) y de forma incompleta ($p < 0.125$) en otro 12% de los casos. El 39% de los LFP, que responden y se recuperan total o parcialmente después de la congelación, se han considerado para un posterior análisis, recogido en las figuras 45 a 48 y la Tabla 3. Aquellos que no se recuperaron han sido considerados ambiguos y no se describen en detalle.

	N1	N2	DN	Estático	Dinámico
	Amplitud			Frecuencia	
I	36.83	40.37	57.32	36	63
D	-24.69	-45.38	-38.10	20	37
ID	34.12	-17.29		25	
DI	-29.25	31.29		19	

Tabla 3: Amplitud y frecuencia de los efectos de la congelación I, D, ID, DI durante la presentación del estímulo S2. Los valores significativos se marcan en negrita.

En el 36% de los casos con recuperación o bien N1 o N2 o ambos a la vez incrementaron su valor durante de la congelación (denotado como efecto I, Figs. 45 y 46, y Tabla 3) al 37% y 40% del control en promedio, respectivamente. En el 20% de los casos o N1 o N2 o ambos disminuyeron su valor (efecto D, Figs. 44 y 46, y Tabla 3). En el caso de N1 dicho decremento no alcanzó una significancia estadística mientras que N2 disminuyó su valor en un 45% respecto a control.

En el 25% de los LFP N1 aumentó mientras que N2 disminuyó (efecto ID, Figs. 45 y 46, y Tabla 3) aunque sólo el incremento de N1, en un 34% respecto al control fue estadísticamente significativo. Finalmente en el 19% de los casos N1 disminuyó y N2 se incremento (efecto DI, Figs. 45 y 46, y Tabla 3). El decremento de N1 no alcanzó valores significativos mientras que el incremento de N2 solo es considerable estadísticamente en los casos de recuperación completa después de la congelación.

En conclusión, durante la fase estática del estímulo S2 tanto los valores de los picos N1 como N2 se incrementan significativamente durante la

congelación mientras que solo N2 decrece. Globalmente, el incremento fue observado con más frecuencia que el decrecimiento (61 frente a 20 casos, Tabla 3).

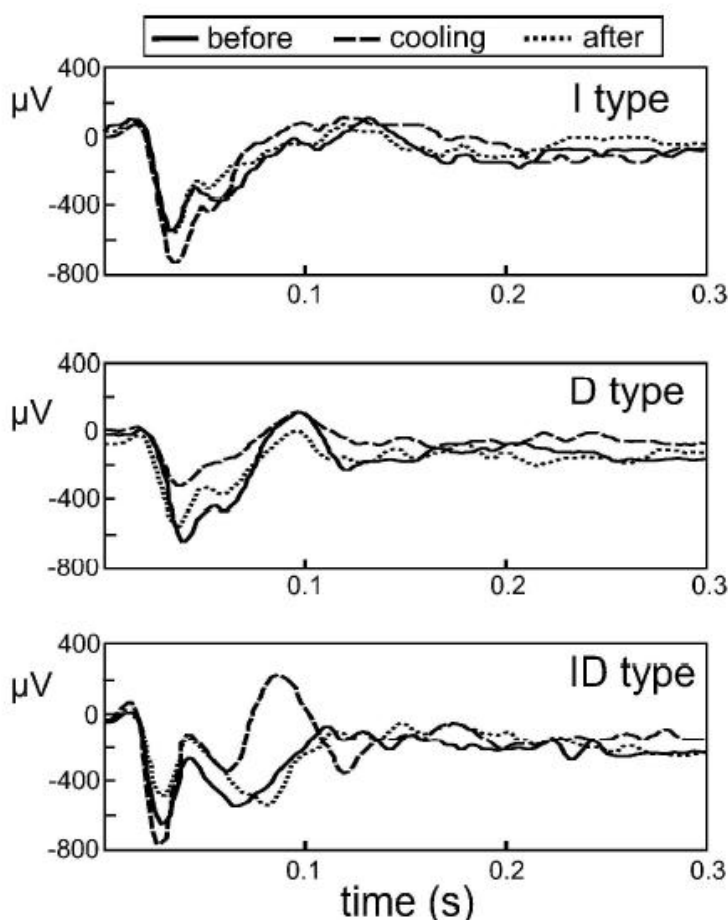


Figura 45: La congelación del hemisferio contralateral modifica la respuesta al estímulo (ejemplo para la estimulación S2). La congelación incrementa (efecto I) o disminuye (efecto D) la amplitud de la respuesta aunque a veces el efecto fue más complejo y dependiente de la latencia al estímulo. Por ejemplo, en el registro presentado (electrodo CH 4, panel inferior) el análisis estadístico muestra un incremento moderado de la respuesta estática, el primer pico ocurre a 24-40 ms y un más robusto decrecimiento al segundo pico en 60-80 ms (efecto ID).

Los efectos de la congelación del hemisferio contralateral sobre la respuesta a barras en movimiento, respuesta DN, han podido ser estudiados en 547 LFPs. La congelación afectó significativamente al 22% de los casos, de los cuales el 60% se recuperó completamente ($p < 0.05$) y el 63% lo hizo parcialmente ($p < 0.125$). Entre ellos, el efecto I fue más frecuente (63%) y largo (57% del control), que el efecto D (37% y -37%, respectivamente) (Fig. 47

y Tabla 3). Por tanto, cuando se muestran a los dos hemisferios barras en movimiento y de igual orientación, facilitan o deprimen la respuesta de la otra pero parece predominar el efecto de facilitación tanto en frecuencia como en amplitud.

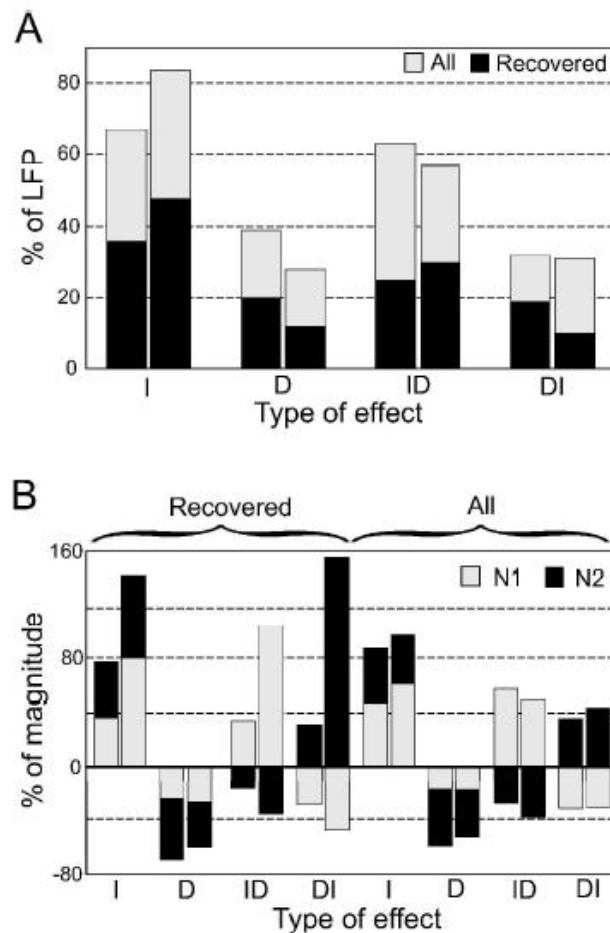


Figura 46: Frecuencia (A) y amplitud (B) de los efectos de la congelación del hemisferio contralateral sobre las respuestas a la fase estática de los estímulos S2 y S3 (columnas izquierda y derecha, respectivamente, para cada par). Tipos de efectos: I-incremento en la amplitud de la respuesta, D-disminución en la amplitud de la respuesta, ID-secuencia de incremento-disminución para los picos N1 y N2; DI-viceversa. A). Notar que los efectos predominantes son los I e ID en S2 y S3 y que la distribución de efectos es similar para aquellos que se recuperan después de la congelación que los que no lo hacen. B) Cambios en la amplitud para los picos N1 y N2 de la respuesta. Notar que con ambos estímulos el efecto que prevalece es el de incremento, particularmente el de N1, pero también N2 y más moderadamente el decrecimiento de N2.

Respuesta al estímulo S3

Se ha registrado la respuesta al estímulo S3 para testar si la interacción entre los hemisferios se ve afectada por la orientación de las barras que procesa

cada hemisferio. En otras palabras, abordamos la cuestión de si la interacción entre hemisferios depende o no de la orientación. Para ello le presentamos al animal columnas igualmente orientadas en un hemisferio y columnas orientadas perpendicularmente a las anteriores (Fig. 41, S3). Hemos registrado respuesta al estímulo S3 en 81 localizaciones del micro-electrodo, para 8 orientaciones y direcciones de movimiento. Al igual que para S2, la aparición del estímulo estático y el dinámico provocaron potenciales evocados con características similares a los encontrados en S2 (Fig.44). La latencia de N1 es de 22.1 ± 5.9 ms, el tiempo hasta el pico es de 29.3 ± 8.6 ms, de duración es de 18.8 ± 8.0 ms, y amplitud -226.1 ± 238.4 μ V. El pico N2 surge a los 58.9 ± 18.6 ms, dura 53.8 ± 21.4 ms y su amplitud fue de -159.8 ± 155.8 μ V.

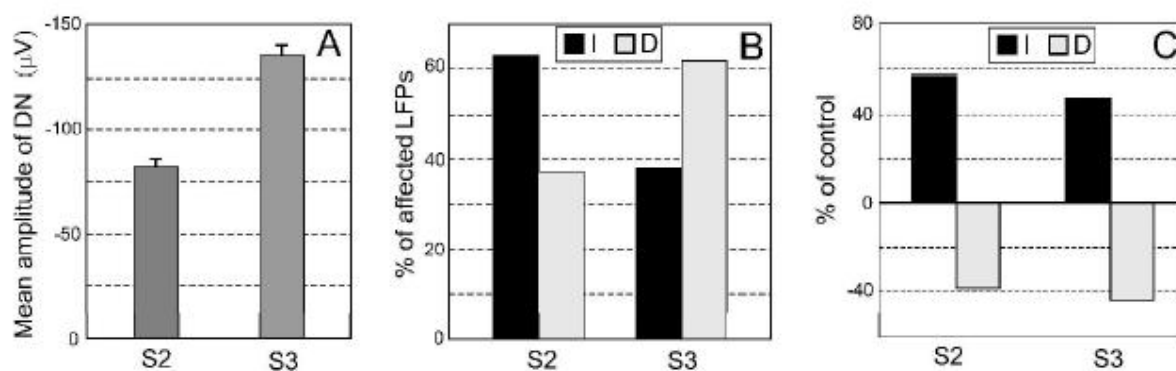


Figura 47: Caracterización estadística de la respuesta a la fase dinámica de los estímulos S2 y S3. A). Amplitud media y error estándar de la respuesta, B) frecuencia y C) magnitud de los efectos de la congelación. Notar que la respuesta a la fase dinámica del estímulo consiste en una onda negativa de mayor amplitud para S3 que para S2. La congelación incrementa la amplitud de la respuesta a S2 (efecto I) más frecuentemente que para S3, sin embargo ocurre lo contrario para el efecto D, más frecuente para S3. El incremento de la amplitud es mayor en S2 que en S3, pero el decrecimiento es por el contrario menor en S2 que en S3.

Después de la congelación, la respuesta se recuperó hasta niveles estadísticamente indistinguibles del control en el 21% de los casos ($p < 0.05$) y de forma parcial ($p < 0.125$) en otro 7% más de los casos. Al igual que para S2, se han identificado los tipos de efecto I, D, ID y DI (Fig. 46 y Tabla 4). El efecto I se observó en el 48% de los LFP que responden y se recuperan con un incremento significativo del 80% para N1 y 63% para N2. El efecto D se encontró en el 12% de los LFP recuperados pero no fue estadísticamente

significativo. El efecto ID se observó en el 30% de los LFP con un incremento significativo del 105% para N1 y un decremento del -35.9% para N2 con respecto al control. Finalmente, el efecto DI se observó en el 10% de los casos con un decremento significativo del -4% para N1 y un incremento del 155% para N2 sobre los niveles control. Globalmente, el incremento se observó más frecuentemente que el decremento (88 frente a 44; Tabla 4).

	N1	N2	DN	Estático	Dinámico
	Amplitud			Frecuencia	
I	79.92	63.40	47.10	48	38
D	-27.35	-34.06	-43.97	12	62
ID	105.07	-35.87		30	
DI	-48.53	154.83		10	

Tabla 4: Amplitud y frecuencia de los efectos de la congelación I, D, ID, DI durante la presentación del estímulo S3. Los valores significativos se marcan en negrita.

Estos hallazgos coinciden con los observados en S2, demostrando así que las barras que se extienden sobre ambos hemisferios se procesan por la interacción inter-hemisférica y este procesamiento deprime más frecuentemente la respuesta modulada por la vía tálamo-cortical.

Los efectos de la congelación del hemisferio contralateral sobre la respuesta a barras en movimiento, respuesta DN, han podido ser estudiados en el 24% de los LFP (Fig. 47 y Tabla 4). La latencia (43.2 ± 26.0 ms), la posición del pico (74.7 ± 14.0 ms) y su duración (51.7 ± 28.8 ms) son similares a los encontrados en la estimulación S2. Sin embargo, la amplitud fue significativamente ($p < 0.0001$) mayor que la de S2 (-135.3 ± 93.5 μ V). La congelación afectó al 37% de los casos con una recuperación completa y a un 13% más si la recuperación fue parcial. Entre ellos, el efecto D predomina (62%) sobre el efecto I (38%). Es interesante notar que sólo el efecto D alcanzó una significancia estadística en el cambio de amplitud (-43.9 % sobre el control), mientras que el efecto I alcanzó la significancia sólo en los LFP recuperados completamente, donde su magnitud (28.1%) permaneció sin embargo inferior a la del efecto D (-35.6%).

El decrecimiento ante las barras de estimulación S3 podría deberse al hecho de que el estímulo S3 activa diferentes grupos (circuitos) de neuronas específicas a la orientación y/o dirección a través de rutas tálamo-corticales y el cuerpo calloso. La congelación del hemisferio contralateral elimina la última vía, reduciendo así sus respuestas. Por tanto, cuando se muestran diferentes barras a los dos hemisferios, facilitan o deprimen la respuesta del otro pero de forma contraria al caso de barras de igual orientación, la depresión predomina tanto en frecuencia como en amplitud. Las respuestas observadas en el LFP provocadas por las barras dependen de la señal de entrada de las correspondientes áreas del hemisferio contralateral y los efectos son dependientes del estímulo.

Latencia de las interacciones inter-hemisféricas

Para estudiar la latencia de las interacciones entre hemisferios, hemos dividido el efecto de la congelación sobre la respuesta generada por los estímulos S2 y S3 estáticos en cuatro ventanas temporales: 25-50, 45-60, 60-500 y 550-700 ms después del comienzo del estímulo (fig. 48). Para S2 y S3, el efecto I ocurrió predominantemente en latencias más cortas, mientras que el efecto D es progresivamente más frecuente al incrementar la latencia. Esto indica que la interacción de depresión entre los hemisferios podría estar conducida a través de vías rápidas que facilitan la interacción.

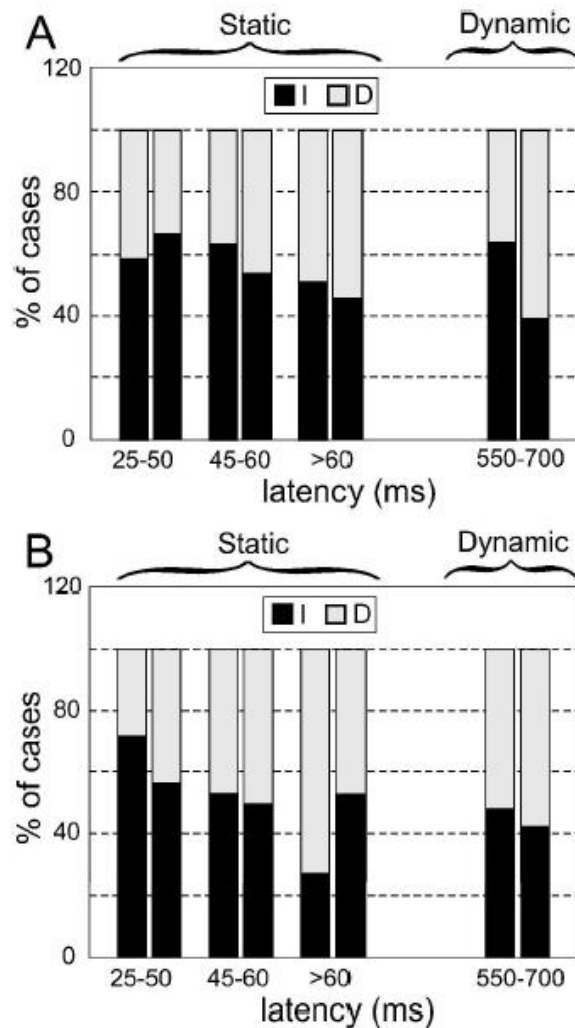


Figura 48: Latencia de los efectos I y D para el estímulo S2 (barra de la izquierda) y S3 (barra de la derecha). A) Respuestas recuperadas después de la congelación del hemisferio contralateral. B) Todas las respuestas. Los dos paneles muestran una mayor frecuencia al incremento en la fase más cercana al comienzo del estímulo y un decrecimiento progresivamente más frecuente a mayores latencias.

Los resultados que acabamos de presentar son similares cualitativamente a los obtenidos mediante técnicas de inactivación semejantes (Payne et al, 1991), donde se estudiaron los cambios en la respuesta de neuronas individuales encontrándose que la inactivación contralateral se incrementaba en un 46% de las respuestas y disminuía en el 41%, permaneciendo el resto inalteradas. De dicho estudio se puede concluir que el cuerpo calloso mejora y atenúa la respuesta evocada visualmente del hemisferio contralateral. Esta conclusión también puede ser inferida desde un punto de vista experimental muy diferente, la conexión auditiva callosa en el

hurón (Kitzes y Doherty, 1994). La literatura cuenta con diferentes ejemplos de interacciones excitadoras e inhibitorias entre los hemisferios (ver por ejemplo las revisiones de Innocenti, 1986). Los hallazgos mencionados clarificaron sustancialmente el antiguo debate de si la conexión callosa tiene un papel principalmente excitador o inhibidor (Bloom y Hydn, 2005): tiene ambos.

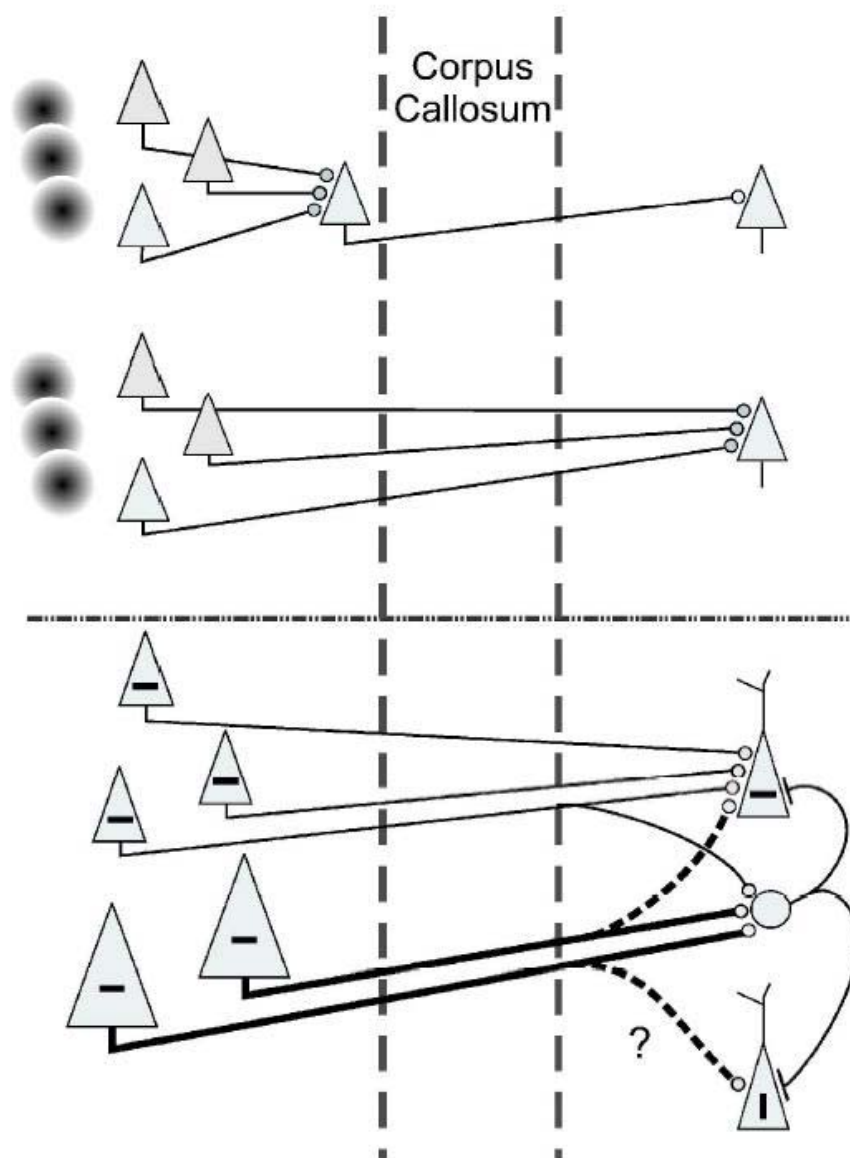


Figura 49: Modelo que captura los aspectos principales de nuestros resultados. Panel superior: Debido a que los cuadros pequeños no afectan la diana contralateral, mientras que las barras si lo hacen, parece que la señal de salida de las neuronas que responden a pequeños cuadros requiere una sumación para afectar a las dianas contralaterales. El dibujo sugiere que la sumación puede ocurrir o bien al nivel de la señal de salida del hemisferio emisor o bien al de las neuronas diana en el hemisferio receptor. Panel inferior: La señal de entrada inter-hemisférica parece ser principalmente excitadora (alrededor de los terminales sinápticos axónicos), sin embargo, genera una respuesta

temprana inhibidora vía las interneuronas locales. Esta inhibición temprana se extiende más que la excitación y podría estar conducida principalmente por axones anchos, con una alta velocidad de conducción, mientras que la excitación tardía es conducida principalmente por axones finos, con una velocidad de conducción baja. El panel inferior captura algunos aspectos adicionales: la inhibición sucede entre ambas neuronas igualmente orientadas y con orientación cruzada. La excitación sucede más bien entre neuronas con igual orientación. Podría haber una excitación temprana pero débil de orientación igual o cruzada (marcada con un signo de interrogación y línea discontinua).

La figura 49 pretende capturar los aspectos principales del presente estudio en un modelo simple. El hecho de que la respuesta a pequeños flashes no se vea afectada por la inactivación del hemisferio contralateral mientras que con las barras si, indica que las interacciones Inter.-hemisféricas requieren una sumación espacial. La sumación podría ocurrir sobre las neuronas de proyección al calloso (en el hemisferio que manda la información). De hecho, algunas de las neuronas de proyección al calloso tienen campos receptivos simples que suman las señales de entrada geniculo-laterales y se activan con estímulos alongados (Hubel and Wiesel 1967; Berlucchi and others 1967; Shatz 1977; Innocenti 1980). Estas neuronas, sin embargo, representan una minoría de las neuronas de proyección al calloso. Según varios estudios representan el 13%, activándose antidromicamente (Innocenti, 1980; McCorut *et al.*, 1990). Hay que mencionar que estos estudios se refieren a la corteza visual del gato, y que no existen datos comparables para el hurón. Por tanto, la sumación tiene que ocurrir en las neuronas diana, ya que todas o la mayoría de las neuronas que reciben una señal de entrada callosa tienen campos receptivos catalogados de complejos (Berlucchi and others, 1967; Innocenti 1980; Lepore and Guillemot 1982; McCourt and others 1990), contruidos supuestamente por la sumación de las señales de entrada de otras neuronas corticales.

La figura 49 asume que las neuronas que responden a la misma orientación del estímulo están interconectadas por axones callosos excitadores. Esto cuadra con la mayoría de las evidencias experimentales de hoy en día (Schmidt *et al.* 1997; Kiper *et al.*, 1999; Rochefort *et al.*, 2007; Bosking *et al.*, 2000). Las conexiones callosas son excitadoras pero causan inhibición vía una Inter.-neurona, como muestran numerosos estudios (Innocenti, 1986; Cissé *et al.*, 2003; Alenda y Nuñez, 2007; Karayannis *et al.*, 2007) aunque existen unas

pocas conexiones directas inhibitorias entre los hemisferios (Peters *et al.*, 1990; Fabri y Manzini, 1996). Asumimos además que las Inter-neuronas inhibitorias conducidas por una orientación dada contactan con neuronas iso-orientadas y no iso-orientadas (Monier *et al.*, 2003; Mariño *et al.*, 2005; Kisvárdy *et al.*, 1994). El modelo incorpora nuestro resultado de que la interacción inhibitoria predomina a latencias cortas y la excitadora a latencias más largas después del estímulo. Este asume que los axones delgados y conductores del calloso contactan a las Inter.-neuronas inhibitorias mientras que las conexiones más lentas son excitadoras. En un modelo previo de las interacciones callosas en las áreas visuales se postuló también que la conducción de la interacción Inter.-hemisférica es más rápida para la inhibición que para la excitación (Innocenti *et al.*, 1995) y que las diferencias de tiempos entre las dos podría modular los ciclos oscilatorios de los hemisferios. Desafortunadamente no existen evidencias de que esto sea así. El modelo que proponemos atribuye significancia al hecho de que el cuerpo calloso contenga un gran espectro de diámetros de axones desde 0.06 (no mielinizado) hasta 1 μm en el gato (Berbel y Innocenti, 1988) y entre 0.08 y 2.5 μm en el mono rhesus (LaMantia y Rakic, 1990) con axones de diferente diámetros (0.25 – 3 μm) originados en el borde de las áreas 17 y 18 (Houzel *et al.*, 1994). Las diferencias en los diámetros de los axones lleva a los rangos en la velocidad de conducción en el borde de las áreas 17 y 18 del gato, que son 1.4 – 27 o 8 – 30 m/s y a los retrasos de la conducción orotrómica entre 2 y 20 ms (Innocenti *et al.*, 1995). Finalmente debemos mencionar que los hallazgos presentados sugieren que las conexiones callosas de las áreas visuales primarias no conducen independientemente las respuestas corticales sino que modulan la señal de entrada tálamo-cortical predominante.

6.4 Conectividad espectro temporal a partir de trenes de disparos

A nivel neuronal, el análisis cualitativo y cuantitativo de la actividad de disparo de las neuronas individuales es una valiosa herramienta para estudiar la dinámica y arquitectura de las redes neuronales en el sistema nervioso central (Kandel *et al.*, 2000; Moore *et al.*, 1966; Perkel *et al.*, 1967a). Tal actividad no se debe únicamente a las propiedades intrínsecas de las neuronas sino que es más bien una consecuencia de las influencias directas de otras neuronas, desde unas pocas centenas a miles, lo que lleva a un comportamiento dinámico complejo mas que a una simple combinación de lo que hace cada una de las neurona. Aunque el comportamiento de una red neuronal depende de las interacciones de un alto número de neuronas, de su morfología y del patrón de conectividad completo, normalmente no podemos registrar la actividad de cada una de las células sino que más bien nos debemos restringir a una muestra muy limitada de la red cuyas propiedades pretendemos capturar. Más aún, deducir la conectividad funcional/efectiva entre neuronas cuyos trenes de disparo experimentales hemos observado es de crucial importancia en neurociencia: primero para una correcta interpretación de la actividad electrofisiológica de las neuronas y redes neuronales involucradas, y segundo y probablemente más importante, relacionar la actividad electrofisiológica con las tareas funcionales que desempeña la red.

El procesamiento sensorial en el sistema nervioso central involucra una adaptación dinámica de la eficiencia sináptica dependiendo del nivel de alerta o las condiciones de comportamiento. En este proceso la proyección corticofugal a las estaciones de relevo sub-corticales podría jugar un papel muy importante de modulación añadiendo el concepto temporal a la dinámica interna. Los núcleos de la columna dorsal (DCN), que incluyen los núcleos gracil y cuneatus y los núcleos del trigémino, pertenecen a la estructura cerebral de la primera estación de relevo en la vía lemniscal que reciben información somatosensorial desde el cuerpo y la cara respectivamente a través de la columna dorsal, y proyectan al tálamo somatosensorial. Aunque se han estudiado previamente los mecanismos sinápticos de la modulación corticofugal en las neuronas del DCN, todavía no se han establecido los cambios dinámicos de esta acción corticofugal, debido principalmente a la falta de herramientas adecuadas para el análisis de la evolución temporal de las respuestas sensoriales (Fig. 50).

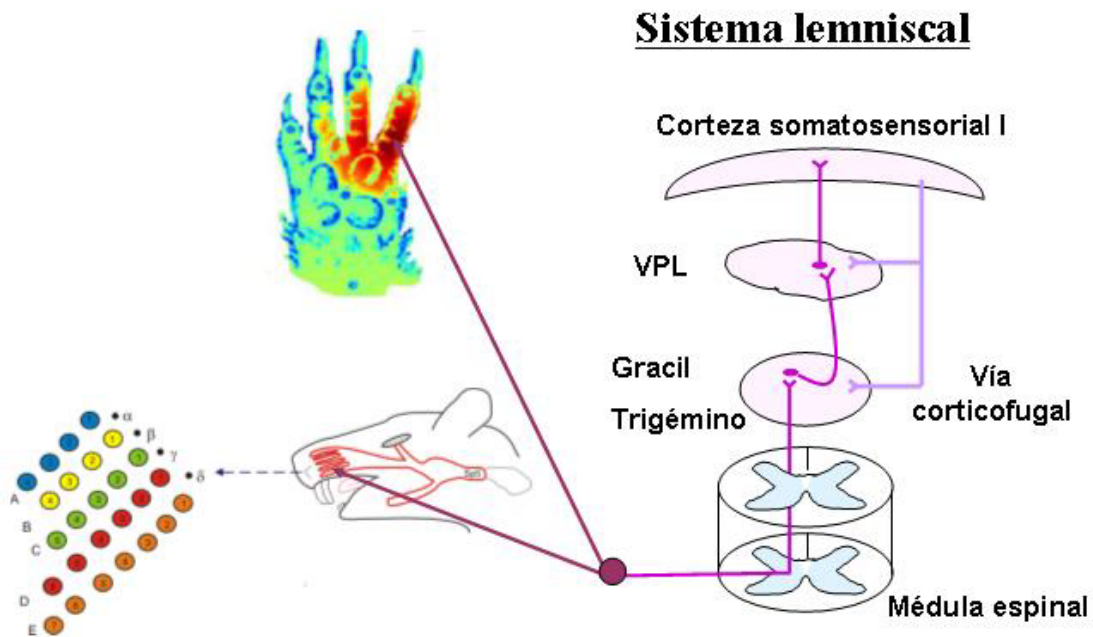


Figura 50: Esquema del sistema lemniscal: Los núcleos gracil y trigémino pertenecen a la estructura de la primera estación de relevo del sistema. Reciben de la corteza somatosensorial primaria una importante entrada cuyo papel es modular la actividad de disparo de las neuronas de dicho núcleos. Estudiamos los efectos de dicha modulación dinámica en la respuesta de las neuronas a estímulos táctiles.

En este trabajo pretendemos cuantificar la coherencia wavelet, es decir la asociación funcional tempo-espectral, entre la respuesta de las neuronas del núcleo gracil a la estimulación táctil y mostrar que la activación de la corteza somatosensorial primaria lleva a una alteración dinámica (variante en el tiempo) de la respuesta de las neuronas mediada por la vía corticofugal.

Primero describimos cómo la coherencia wavelet puede aplicarse a la investigación de las propiedades dinámicas de los trenes de disparo y después aplicamos el método para evaluar los cambios dinámicos de la respuesta neuronal a la estimulación táctil en el núcleo gracil provocado por la activación de la retroalimentación corticofugal desde la corteza SI, mostrando que puede modular la respuesta de las neuronas del gracil. Por tanto la fase entre la actividad de disparo inducida por la estimulación táctil y el estímulo puede acentuarse o debilitarse. La existencia de tal modulación puede interpretarse como una posibilidad de cambio de “atención” a estímulos relevantes, ya que una respuesta coherente de las neuronas de proyección del estímulo al tálamo

favorecerá el transporte del estímulo sensorial desde la periferia al tálamo y después a la corteza. Para centrarnos en las propiedades de alerta de la vía corticofugal hemos estudiado la respuesta de las neuronas del trigémino a estímulos táctiles aplicados sobre la vibrisa y hemos cuantificado los cambios ocurridos ante la presencia de un estímulo de distracción aplicado sobre el mismo lado o el contrario de la cara. Las complejas alteraciones que sufre la asociación funcional entre la respuesta neuronal y los eventos de estimulación ante una posible distracción apoyan el papel modulador de la corteza somatosensorial ya sobre las primeras estaciones de relevo en el sistema lemniscal.

Los métodos empleados hasta ahora parten de la estimación del espectro de potencias de la señal, y es en este punto donde surge la gran diferencia entre la aplicación de los métodos a procesos puntuales o a series de temporales. Nuestro primer objetivo ha sido la evaluación del rendimiento de los métodos en su aplicación a trenes de disparos, lo que nos ha llevado a descartarlos como herramienta para inferir en el patrón de conectividad debido a la dificultad que conlleva el tratamiento previo de este tipo de datos y la baja fiabilidad de los resultados. Sin embargo en este punto surge la controversia de si los métodos no son capaces de determinar el circuito neuronal correctamente o su bajo rendimiento es fruto de una pobre estimación del espectro de potencias del tren de disparos, medida en la que están fundamentalmente basados. Ante este dilema proponemos una herramienta capaz de estimar el espectro de potencias del tren y que además sea capaz de superar en prestaciones a la transformada de Fourier. Recurrimos a la transformada wavelet por ser una técnica que trabaja simultáneamente en el dominio de tiempo y frecuencia y no requiere del comportamiento estacionario de la señal, proporcionando así su dinámica. Basada en el espectro de potencias wavelet proponemos la coherencia wavelet como método para inferir en la interacción dinámica entre dos trenes de disparo. Ejemplos de sus ventajas son la aplicación al estudio de las respuestas de las neuronas de proyección del grácil ante estímulos táctiles rítmicos y el papel de modulación que ejerce la corteza somatosensorial primaria. Hemos caracterizado las propiedades dinámicas de dicha respuesta y la influencia de la frecuencia de estimulación. También hemos empleado la coherencia wavelet a los trenes de

disparo de las neuronas del núcleo trigémino, cuantificando los cambios de las respuestas a la estimulación de las vibrisas ante una distracción simultánea de diverso carácter.

6.4.1 Modulación corticofugal en la coherencia de la respuesta táctil de las neuronas de proyección del núcleo gracil

Las neuronas del DCN reciben principalmente dos señales de entrada excitadoras que controlan su actividad. Por una parte de las fibras somatosensoriales ascendentes vía la columna dorsal, que establecen contacto las neuronas de proyección talámica y las Inter.-neuronas inhibitorias (Rustioni y Weinberg, 1989; DeBiais *et al.*, 1994; Lue *et al.*, 1996). Y por otra, por las fibras corticofugales, en primer lugar desde las células en las regiones de las patas traseras y delanteras de la corteza somatosensorial primaria (SI) y, en menor medida, desde el área cortical somatosensorial secundaria, principalmente a través del tracto piramidal (Jabbur y Towe, 1961; Kuypers y Tuerk, 1964; Valverde 1966; Weisberg y Rustioni, 1976).

La vía ascendente ha sido ampliamente estudiada a lo largo de las últimas décadas (ver por ejemplo, Rustioni y Weinberg, 1989; deBiais *et al.*, 1994; Lue *et al.*, 1996), mientras que el papel y las propiedades dinámicas de la vía corticofugal son aún bastante desconocidas. Estudiar la interacción entre las dos vías podría arrojar luz sobre la globalidad del procesamiento de la información táctil en el DCN.

Recientemente, que se mostrado que la corteza sensori-motora ejerce un control selectivo de la transmisión somatosensorial al DCN (Malmierca y Nuñez 1998, 2004; Canedo y Aguilar 2000; Aguilar *et al.* 2003). De hecho, la señal de entrada corticofugal facilita las respuestas sensoriales de las neuronas del gracil con campos receptivos coincidentes e inhibe las respuestas sensoriales de células con campos receptivos separados, proporcionando probablemente un mecanismo sináptico para mejorar el contraste entre señales sensoriales. Experimentos *in vitro* han mostrado que la activación de las fibras corticofugales regula tanto la señal sensorial de entrada a través de la columna dorsal como la señal de entrada corticofugal (facilitación *homo* y *hereto*-sináptica; Nuñez y Buño, 1999, 2001). Los receptores NMDA se activan por la

liberación de glutamato desde las terminales corticofugales e inducen un flujo de Ca^{2+} a través de canales dependientes de voltaje a las neuronas del DCN, desencadenando esos procesos de facilitación (Nuñez y Buño, 1999, 2001; Malmierca y Nuñez, 2004). Aunque se han estudiado previamente los mecanismos sinápticos de la modulación corticofugal en las neuronas del DCN, todavía no se han establecido los cambios dinámicos de esta acción corticofugal, debido principalmente a la falta de herramientas adecuadas para el análisis de la evolución temporal de las respuestas sensoriales.

Se han analizado 29 trenes de disparos obtenidos a partir de 16 registros extracelulares medidos en el núcleo gracil de la rata ante tres condiciones de estimulación consecutivas: i) espontánea; y respuesta a estimulación periódica a 1 Hz del campo receptivo en ii) control y iii) después de estimular eléctricamente la corteza somatosensorial primaria (SI), que abreviaremos como AESC (de sus siglas en inglés After Electrical Stimulation of Cortex). Todas las neuronas fueron identificadas como neuronas de proyección al tálamo ya que fueron antidromicamente activadas ante la estimulación del lemnisco medial. El criterio de identificación antidrómica se estableció en una latencia de 2.0 ± 0.08 ms (en el rango [1.2-2.8] ms) y por la habilidad para seguir estímulos rápidos (100 Hz). Las neuronas analizadas mostraron una baja actividad en espontánea, de media 1.1 ± 0.4 spikes/s (en el rango [0-10] spikes/s), cuyo patrón de disparos coincide con características electrofisiológicas ya descritas (Panetsos *et al.*, 1997; Nuñez *et al.*, 2000). Las neuronas seleccionadas para el estudio tienen un campo receptivo que solapa más de un 50 % con el área cortical estimulada (matching condition; Malmierca and Nuñez 1998, 2004).

Análisis wavelet de un tren de disparos neuronal

Con el objetivo de ilustrar las capacidades del análisis wavelet vamos a detallar el procedimiento para un tren de disparos. La figura 51A muestra el tren de disparos durante las tres condiciones de estimulación diferentes (por motivos ilustrativos hemos empleado una neurona cuya actividad espontánea). En condición espontánea la neurona exhibe un patrón de disparo irregular con un ligero pico en 70 ms que se manifiesta en el histograma de auto-correlación (ACH, Fig. 51B, panel izquierdo). La estimulación mecánica en la condición de

control induce una pronunciada respuesta con una latencia de 25 ms seguida de un ligero ritmo de disparo de periodo 120 ms (Fig. 51B, panel de en medio). La estimulación eléctrica de la corteza SI facilita la respuesta neuronal a la estimulación táctil. La respuesta en el PSTH se vuelve más pronunciada (Fig. 51B, panel de la derecha). Sin embargo, ni la latencia ni la tasa de disparo (21.1 versus 23.7 spike/s) varían mucho con respecto a la condición de control. Además, el débil comportamiento oscilatorio observado en la cola del PSTH en control desaparece.

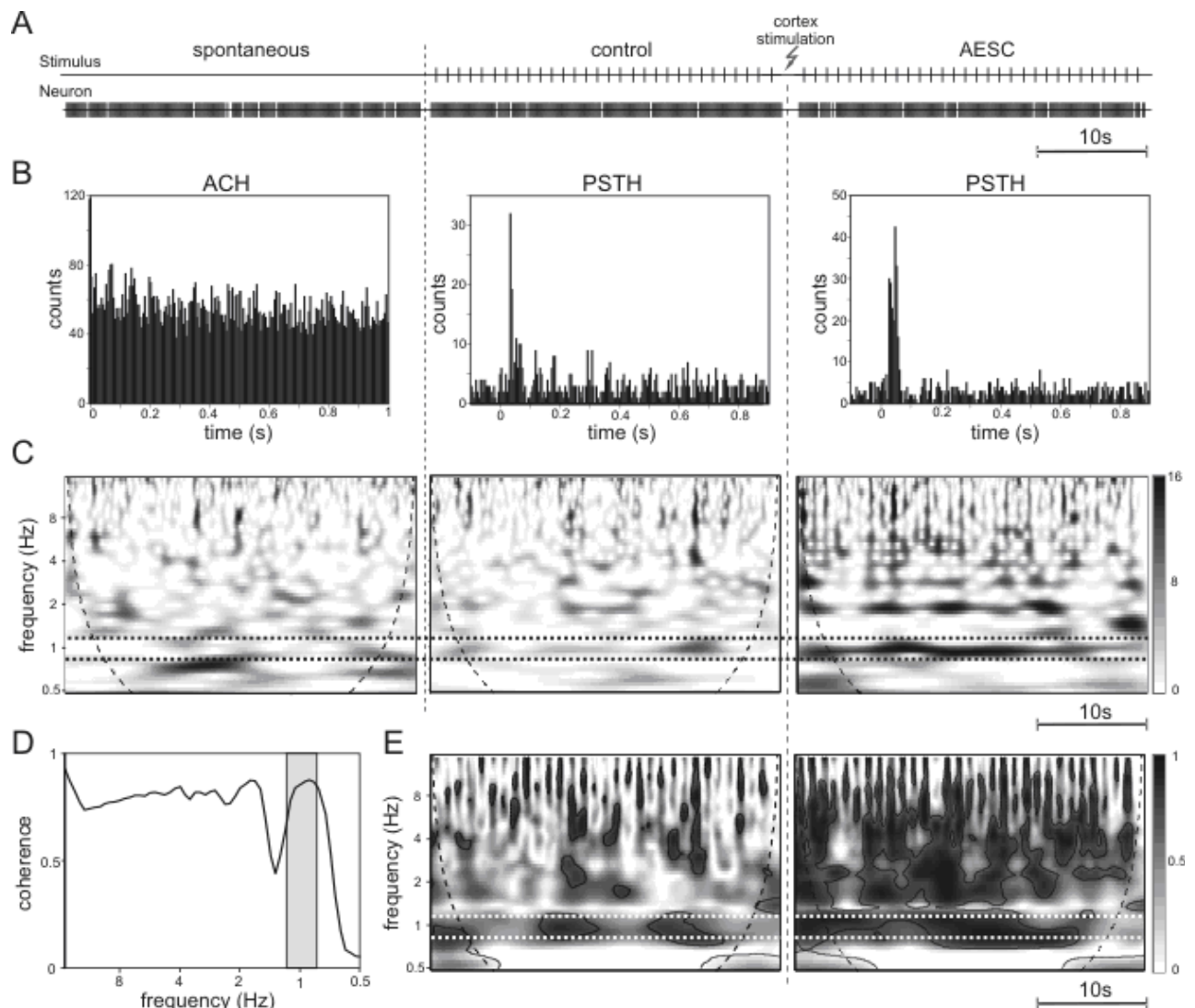


Figura 51. Espectro y coherencia wavelet de trenes de disparo experimentales. A). Eventos de estimulación y tren de disparo neuronal durante 3 épocas: actividad espontánea, estimulación táctil control de 32 s de duración a 1 Hz, y la misma estimulación pero después de haber estimulado eléctricamente la corteza somatosensorial primaria (AESC). B) histogramas de autocorrelación (ACH) y periéstímulo (PSTH) para las correspondientes épocas. C) Espectro de potencias wavelet del tren de disparo neuronal para las

correspondientes épocas. El eje x corresponde a la localización (tiempo) mientras que el eje y se representa en escala logarítmica la frecuencia de oscilación en el rango 0.5 – 15 Hz. La intensidad de grises es equivalente a la potencia espectral wavelet (Eq. 6). Las líneas discontinuas definen el cono de influencia y las líneas horizontales punteadas delimitan la banda de frecuencia del estímulo, 0.83 – 1.16 Hz. D). Nivel de significancia estadística para la coherencia wavelet obtenida mediante el método de datos barajados. Valores de la coherencia por encima de este nivel se consideran significativos. El área gris muestra la banda de frecuencia de interés (alrededor de la frecuencia del estímulo). E) Coherencia wavelet de un tren de disparos neuronal a la estimulación táctil para la época control y AESC. Las líneas sólidas negras delimitan las islas de coherencia estadísticamente significativas. La intensidad de grises corresponde a la fuerza de la coherencia al estímulo de la respuesta neuronal.

Espectro de potencias wavelet y coherencia

El espectro de potencias wavelet (Fig. 51C, panel de la izquierda) confirma la irregularidad en la actividad de disparo observada en el ACH. Existen varios ritmos oscilatorios localizados tanto en el dominio de tiempo como de frecuencia con una distribución esencialmente errática. Luego la actividad de disparo no tiene una periodicidad dominante bien definida (aunque se intuye un leve y no persistente en el tiempo pico en 14 Hz). La distribución de las potencias en control (Fig. 51C, panel de en medio) muestra un pico consistente en la banda de frecuencia del estímulo (de 0.83 a 1.16 Hz, entre las dos líneas discontinuas). Este pico indica la presencia de un ritmo inducido por el estímulo en la actividad de disparo. También es destacable que la amplitud del pico (potencia) no es persistente en el tiempo y exhibe una oscilación de baja frecuencia (inferior a 0.3 Hz). Dicha oscilación de la potencia espectral sugiere que la respuesta neuronal al mismo estímulo táctil no es estable (idéntica) a lo largo del tiempo sino que presenta cierta variabilidad, es decir, la neurona dispara esencialmente un número diferente de disparos y lo hace con diferente intervalo entre espigas (ISI) ante el mismo estímulo a lo largo de la secuencia de eventos de estimulación. Destacamos además el incremento en la potencia espectral alrededor de 8 Hz consistente con la oscilación de periodo 120 ms observada en el correspondiente PSTH (Fig. 51B, panel de en medio). En concordancia con la facilitación a la respuesta al estímulo observada en el PSTH tras la estimulación eléctrica de la corteza SI, el pico de la potencia en la

banda de la frecuencia de estimulación se vuelve mas pronunciado (Fig. 51C, panel de la derecha). Ahora tenemos una isla negra prácticamente continua a lo largo de la estimulación en la banda de frecuencias del estímulo. Destacamos, sin embargo, que la oscilación de frecuencia ultra-baja de la potencia aunque más débil sigue presente. Además existe un fuerte incremento en la potencia de los armónicos del ritmo 1 Hz y, en promedio, una mayor presencia de oscilaciones en el dominio de las frecuencias altas.

Para cuantificar como de coherente es la respuesta neuronal al estímulo evaluamos la coherencia wavelet entre entren de disparos neuronal y los eventos de estimulación. Decidimos la significancia estadística desnivel de coherencia encontrado, es decir, inferimos positivamente en la presencia de una asociación funcional (acoplo) entre el estímulo y la respuesta neuronal basándonos en un test de datos “barajados” haciendo que las relaciones de fase entre las dos señales sean estocásticas. La figura 51D muestra la curva de significancia (valor-p 0.05) para el rango de frecuencias observado en entren de disparo neuronal. Aquellos valores de la coherencia que estén por encima de dicha curva son considerados estadísticamente significativos. Además consideramos la restricción de que si el área de las islas significativas es muy pequeña (alrededor del 5% o menos) entonces la conclusión sobre la respuesta coherente debe ser considerada con precaución.

La figura 51E ilustra la coherencia wavelet entre los eventos de estimulación y la respuesta neuronal evocada. Debido a que la estimulación táctil es periódica (solo tiene una frecuencia), cuando hablamos de la coherencia respuesta nos referimos a aquella en la banda de frecuencia del estímulo solo (delimitada por las líneas discontinuas en la figura 51E). Esto evidencia la presencia de la asociación estímulo-respuesta neuronal que habías adelantado a través del PSTH. Sin embargo, encontramos además que la asociación no es constante sino que en una función oscilatoria en el tiempo. Notar también que el espectro de potencias neuronal en la correspondiente banda de frecuencia no era muy fuerte (Fig. 51C, panel de en medio); Sin embargo la coherencia revela claramente el acoplo funcional entre la dinámica de disparo neuronal y los eventos de estimulación. La coherencia al estímulo de la respuesta neuronal se vuelve más fuerte después de la estimulación eléctrica de la corteza (Fig. 51E, panel de la derecha). Tal y como observamos desde un

principio en el espectro de potencias wavelet (Fig. 51C, panel de en medio y derecho), la coherencia al estímulo presenta oscilaciones de frecuencia ultrabaja.

Resumiendo, para una neurona observamos dos fenómenos: i) la fuerza del acoplo funcional entre el estímulo y la respuesta neuronal se agudiza después de estimular eléctricamente la corteza SI, y ii) la fuerza del acoplo es una cantidad dinámica lentamente oscilante en el tiempo que puede caer temporalmente por debajo del nivel significativo. Esto supone que la neurona podría perder temporalmente la asociación estímulo-respuesta neuronal.

Espectro wavelet global frente al espectro de potencias Fourier

Con el fin de ilustrar los posibles fallos en la interpretación del espectro de potencias de Fourier evaluamos el espectro de potencias de un tren de disparos obtenido con la transformada de Fourier de múltiples tapers, como muestra la figura 51A. En concordancia con la irregularidad del patrón de disparo en espontánea el espectro de potencias de Fourier (Fig. 52A) es esencialmente plano con un pico a 14 Hz correspondiente a la periodicidad observada en el ACH (Fig. 51B, panel izquierdo). Sin embargo, durante la estimulación control la distribución espectral es bastante similar a la que se observa en espontánea aunque con un pico en 1 Hz correspondiente a la respuesta neuronal a la frecuencia del estímulo. Por otro lado, debido a la excesiva periodicidad de la respuesta neuronal, tras la estimulación eléctrica de la corteza SI observamos un pico a 1 Hz inconsecuentemente ancho seguido de varios armónicos fuertes que contaminan el rango de frecuencias altas. Por tanto, la transformada de Fourier de un tren de disparos podría representar erróneamente su densidad espectral.

Hemos usado la transformada wavelet como alternativa para el análisis espectral. La figura 52B muestra el espectro de potencias wavelet global (promediado a lo largo de la duración del registro). El espectro wavelet es mucho más consistente con el ritmo oscilatorio sugerido por el análisis previo de un tren de disparo, ACH y PSTH. De acuerdo con la normalización usada en (6) el valor de la densidad de potencia igual a 1 corresponde al espectro de potencia de un tren de disparo con unos intervalos entre espigas distribuido

equiprobablemente al azar, lo que nos referiremos como tren de disparo estocástico. Por tanto, la potencia espectral por encima (o debajo) de la unidad indica la presencia (o ausencia) del correspondiente ritmo en el tren de disparo con una potencia estadística mayor que la relación puramente casual.

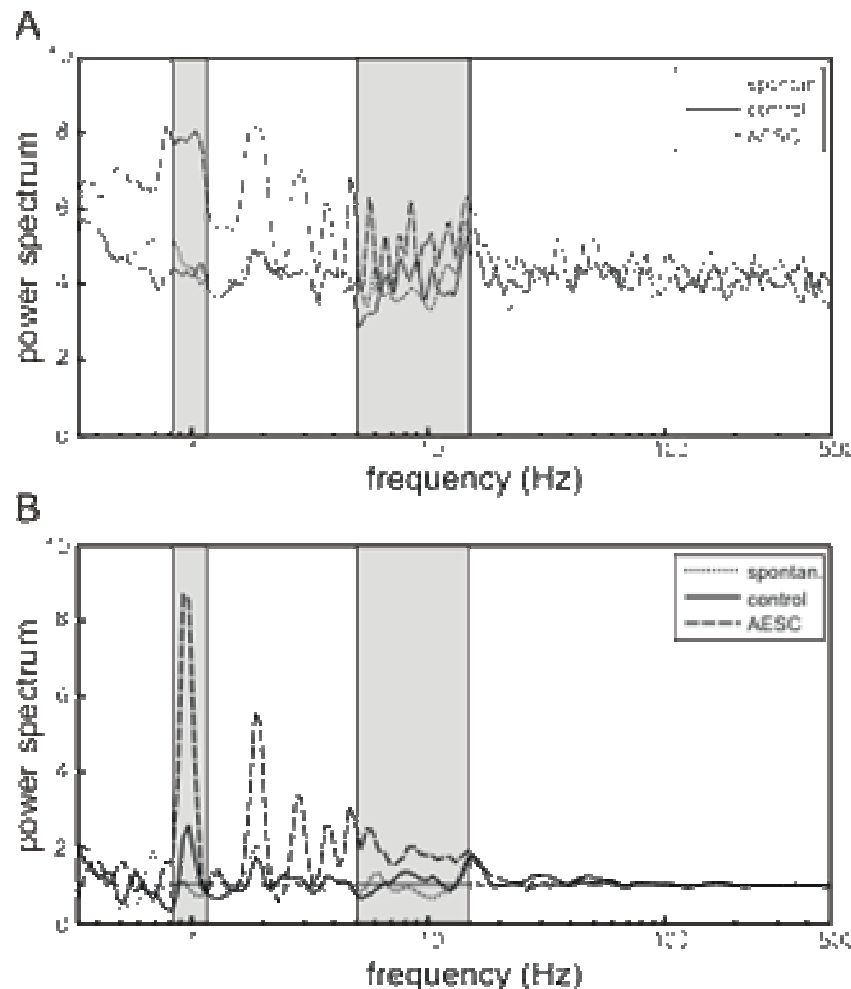


Figura 52. Análisis espectral de un tren de disparo (correspondiente a la figura 51A) para las 3 diferentes épocas: actividad espontánea (línea punteada), estimulación táctil control (línea sólida) y AESC (línea discontinua). Las áreas grises delimitan las bandas de frecuencia alpha, 5 – 15 Hz, y la banda alrededor del estímulo, 0.83-1.16 Hz. A) Espectro de potencia obtenido a partir de la transformada de Fourier multitaper. B) Espectro de potencia wavelet global para las mismas épocas.

Durante la actividad espontánea el espectro de potencias se desvía solo ligeramente del espectro de de un tren estocástico, en todas las bandas de frecuencia (Fig. 52B, línea discontinua). En concordancia con el ligero ritmo observado en el ACH (Fig. 51B, panel izquierdo), el espectro global wavelet presenta un pequeño pico a 14 Hz. Además detectamos picos a 0.7 y 1.9 Hz.

Volviendo al espectro wavelet completo (Fig. 51C, panel izquierdo) encontramos que esos picos se deben a eventos episódicos fuertes localizados entre 4 y 7 s y entre 10 y 16 s, respectivamente. Podemos definir el patrón de disparo espontáneo como un proceso estocástico que no muestra frecuencias específicas persistentes.

Bajo la estimulación táctil control observamos un pico considerable en la banda de frecuencias del estímulo (Fig. 52B, línea sólida). Notar que el pico es bastante estrecho y tiene un único armónico a 2 Hz. La estimulación de la corteza SI aumenta la amplitud del pico en la banda de frecuencia del estímulo y se observa además una importante mejora de la potencia en la banda [5, 15] Hz. Para frecuencias superiores a 15 Hz no hay una desviación significativa de la densidad de potencia desde 1, mientras que para el rango por debajo de 5 Hz los armónicos del ritmo de 1 Hz se manifiestan de forma clara. De acuerdo a estas observaciones, definimos una segunda banda de frecuencias de interés [5-15] Hz, que denotamos como alpha. Por tanto, al nivel individual de las neuronas empleadas en este estudio encontramos que la actividad de disparo está localizada en las bandas de frecuencias correspondientes a la frecuencia de estimulación y al rango alpha.

Evaluación de la coherencia wavelet como método para determinar la asociación funcional entre trenes de disparo

Al igual que hemos hecho con los métodos desarrollados en el dominio de frecuencias propuestos para determinar la conectividad funcional entre pares de neuronas, evaluamos la coherencia wavelet con redes neuronales simuladas.

Primero establecemos el nivel de significancia estadística con el método de datos barajados, donde hemos incluido algunas consideraciones. Consideremos dos trenes de disparos A y B registrados simultáneamente, ya sea la actividad de disparo de dos neuronas o el tren de espigas de una neurona y los eventos de estimulación. Sea $W_{AB}(f, t)$ coherencia wavelet entre los trenes de disparo A y B, donde f es el contenido en frecuencia y t desempeña el papel de tiempo. Por definición $0 \leq W_{AB}(f, t) \leq 1$. Una de las aplicaciones de la coherencia es inferir en la conectividad (sincronía) entre

trenes y dicha conectividad puede variar, como ya hemos dicho, en tiempo y en frecuencia. El valor $W_{AB}(f, t)$ puede capturar esta variación. La figura 53 muestra un ejemplo donde se puede observar la presencia de “islas” rojas indicando un valor alto de la coherencia.

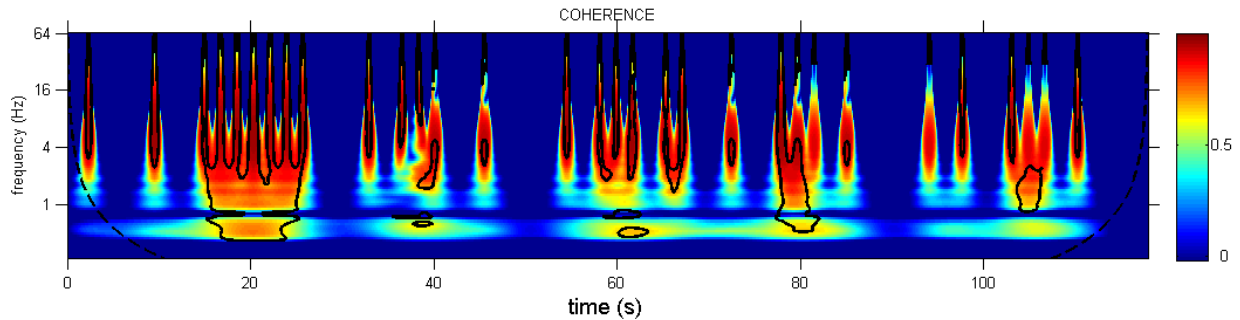


Figura 53: Ejemplo de la coherencia evaluada para dos trenes de disparo. El color codifica el valor de la coherencia.

Obviamente una coherencia mayor supone una mayor probabilidad de conexión entre neuronas. Sin embargo, para afirmar la presencia de asociación entre dos trenes de disparo debemos realizar un test estadístico. Un punto importante es que incluso dos trenes de disparo generados aleatoriamente muestran una coherencia (espuria) no nula (Fig. 54). Notamos que este fenómeno no es particular de la coherencia wavelet sino que también sucede con la coherencia ordinaria (basada en la transformada de Fourier).

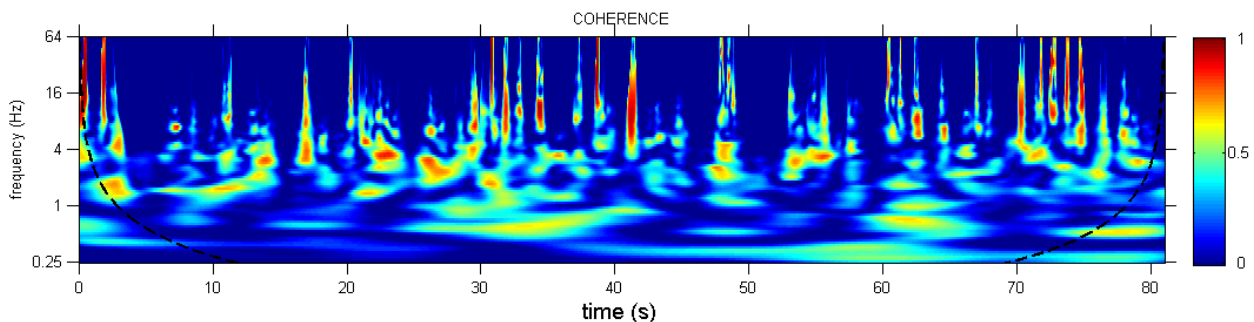


Figura 54: Coherencia wavelet para dos trenes de disparo generados aleatoriamente. Observamos que la coherencia no es nula para todas las bandas de frecuencia.

Para evaluar e ilustrar la metodología propuesta hacemos uso del modelo neuronal de generación de respuesta expuesto en la sección de Métodos. En primer lugar generamos dos trenes de disparo correspondientes a dos neuronas aisladas, es decir que disparan espontáneamente y por tanto con total independencia entre ellas. El amplio espectro de potencias (Fig. 55A) de ambas neuronas es una consecuencia del comportamiento estocástico de las mismas, sin embargo la coherencia entre ellas es prácticamente nula. Promediamos la coherencia a lo largo de la duración del registro (Fig. 55B) y comprobamos que la coherencia wavelet entre las neuronas alcanza valores que están por debajo del nivel de significación para la gran mayoría de las frecuencias, por lo que podemos concluir que la coherencia wavelet no detecta ninguna asociación entre las neuronas.

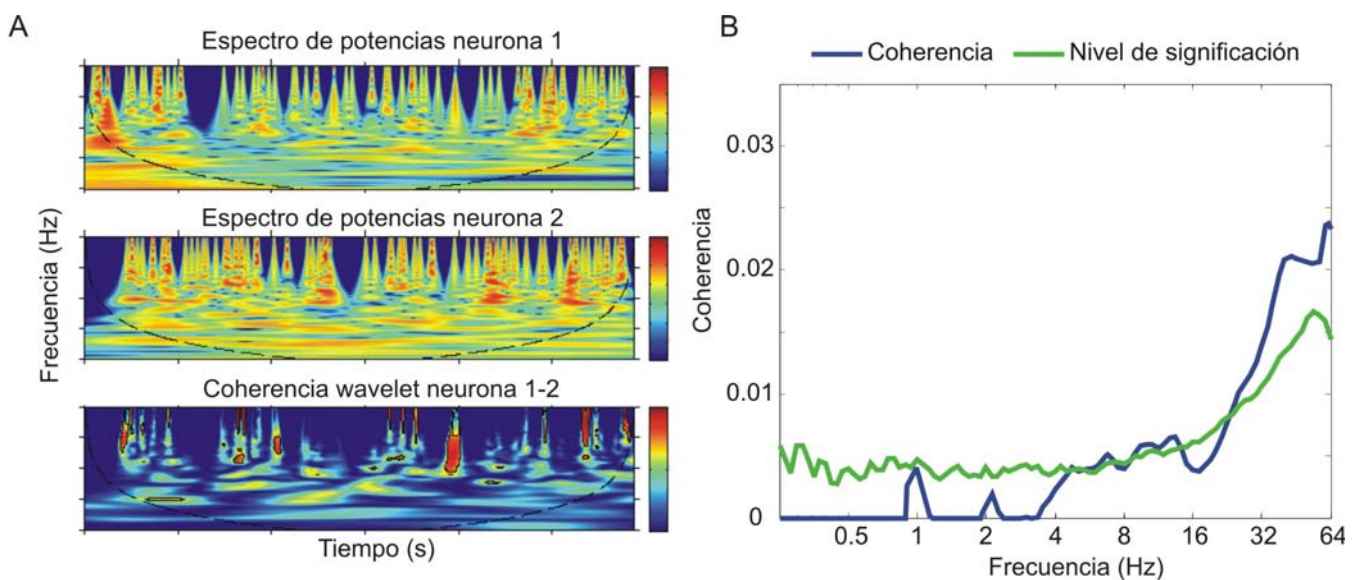


Figura 55: A) Espectro de potencias y coherencia wavelet entre dos neuronas aisladas. B) Coherencia wavelet promediada en el tiempo frente al nivel de significación.

Comprobamos ahora el efecto que tiene la presencia de acoplamiento entre las neuronas sobre la coherencia wavelete. La red construida se compone de dos unidades con un acoplo excitador desde la neurona 2 a la neurona 1. En un primer caso (Fig. 56AB) las neuronas están unidas por un acoplo relativamente débil, lo suficientemente fuerte como para que la neurona 1 notifique su presencia pero no tan fuerte como para tener una alta sincronización. Como vemos la coherencia wavelet (Fig. 56A) exhibe regiones

de mayor coherencia para las frecuencias bajas, comportamiento que se verifica en la curva promedio (Fig. 56B). Al aumentar la fuerza del acoplo la coherencia wavelet entre neuronas alcanza valores mayores (Fig. 56C), lo que evidencia un comportamiento de mayor sincronización. Este fenómeno puede apreciarse también en la curva promedio (Fig. 56D).

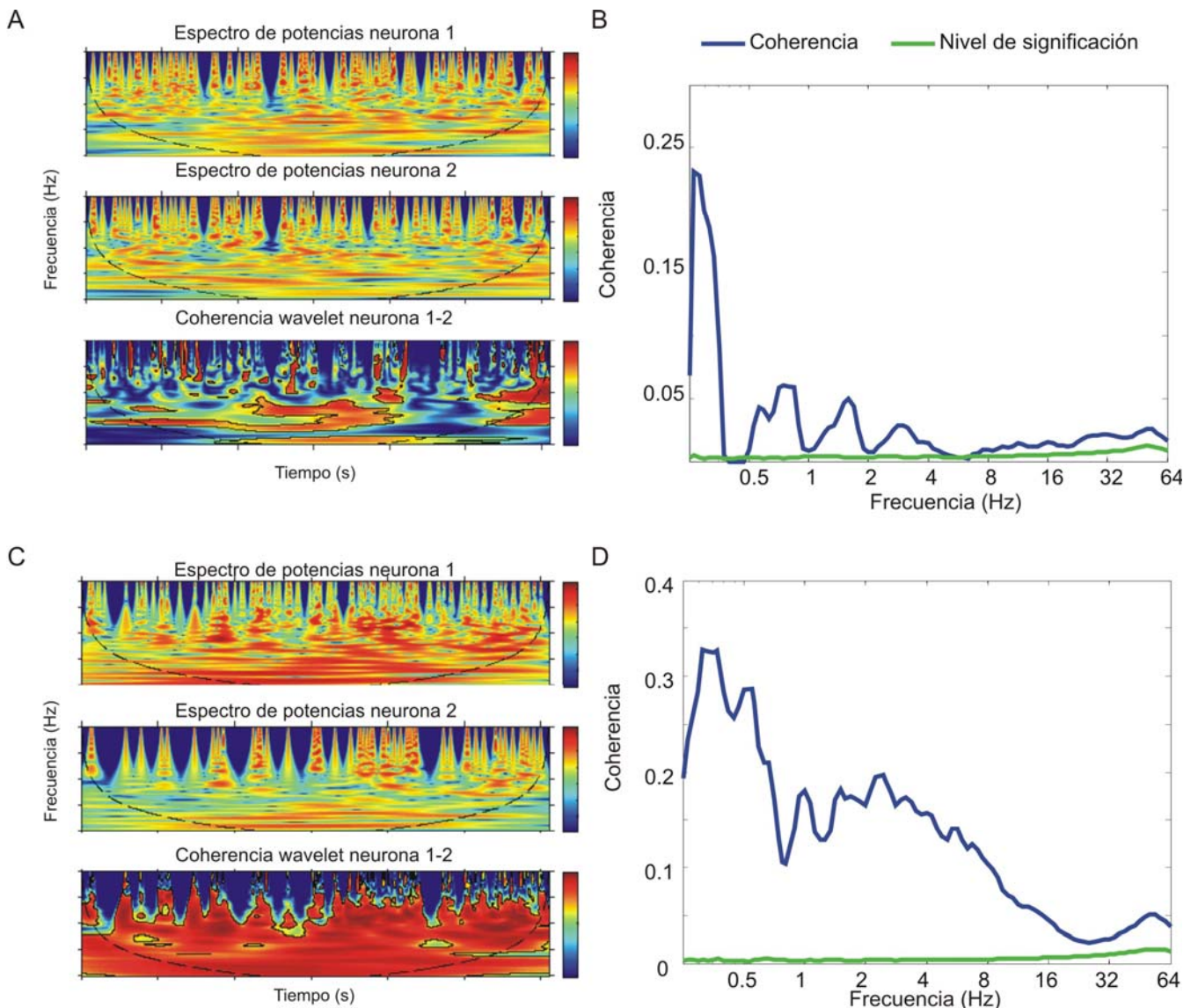


Figura 56: A y C) Espectro de potencias y coherencia wavelet entre dos neuronas aisladas. B y D) Coherencia wavelet promediada en el tiempo frente al nivel de significación para una red formada por dos neuronas con un acoplo excitador. Los paneles superiores muestran los resultados para una red con acoplo intermedio y los inferiores con un acoplo mayor.

Una vez comprobado el rendimiento de la coherencia wavelet sobre datos simulados el siguiente parámetro que ha sido sometido a examen es el número

de parejas de trenes de disparo barajados que debemos generar para evaluar el nivel de significación de la coherencia. El número mínimo de parejas que proporciona una curva fiable del nivel de significación está alrededor de 30. Sin embargo, para asegurar la fiabilidad de los resultados hemos generado 50 parejas de datos barajados en todos nuestros cálculos.

Cambios espectrales en la respuesta neuronal provocados por la estimulación eléctrica de la corteza SI.

La figura 57 recoge los resultados de las propiedades estadísticas de los cambios observados en la potencia espectral, donde se ha comparado el espectro de potencias wavelet global en espontánea y bajo la estimulación táctil en control y AESC.

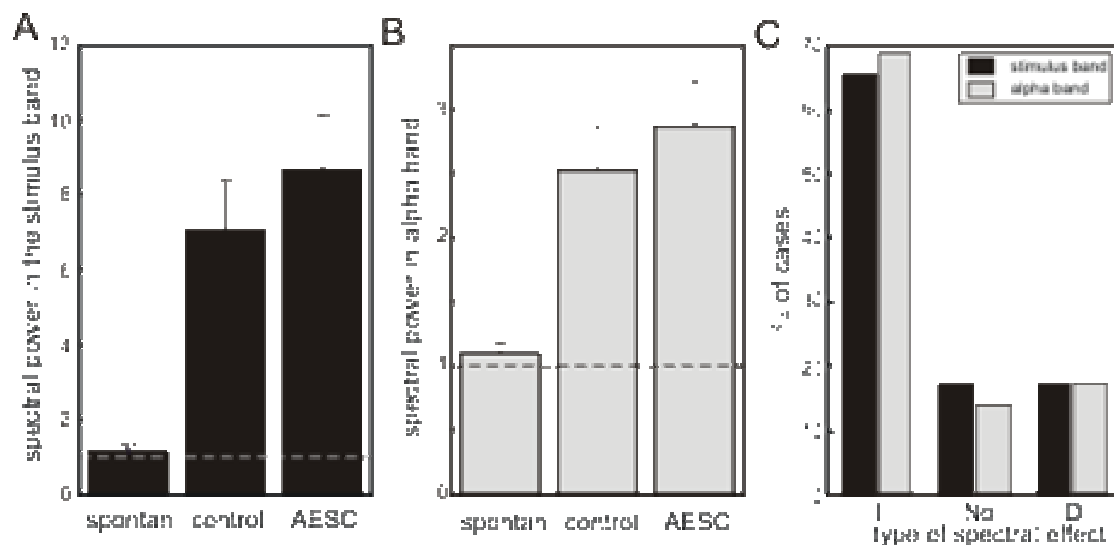


Figura 57. Características espectrales de las neuronas de proyección del gracil en las bandas de frecuencia del estímulo y alpha. A). Potencia media del espectro wavelet global y su desviación estándar en la banda de frecuencia del estímulo para las condiciones de espontánea y durante la respuesta a la estimulación táctil antes y después de estimular eléctricamente la corteza SI. B) Igual que A) pero para la banda de frecuencia alpha. C) Estadística de los tipos de efectos espectrales de la estimulación eléctrica de la corteza SI para las dos bandas de frecuencias. I, No y D se refieren a Incremento, No cambio y Decremento de la potencia espectral, respectivamente. Las barras negras y grises corresponden a las bandas de frecuencia del estímulo y alpha, respectivamente.

La potencia media en espontánea corresponde a la potencia de un tren de disparo estocástico tanto en la banda de frecuencias del estímulo (1 Hz) como en alpha (Fig. 57A y 57B). Esto confirma que el patrón de disparo de las neuronas de proyección en el núcleo gracil es esencialmente estocástico. La estimulación del campo receptivo aumenta la potencia media concentrada en las dos bandas de frecuencias estudiadas (Fig. 57A y 57B, control). El incremento es mucho más notorio en la banda de frecuencia del estímulo (7 versus 2.5 veces). La estimulación eléctrica de la corteza SI provoca el mayor incremento de la potencia, concentrada en ambas bandas de frecuencia (Fig. 57A y 57B, AESC). Sin embargo, en promedio el aumento no es tan drástico. El efecto de la estimulación eléctrica dura entre 15 y 30 minutos y después la neurona recupera su actividad.

El análisis de varianza (ANOVA) asegura que la potencia espectral medias en las tres épocas estudiadas (espontánea, control y AESC) son significativamente diferentes con un valor α 2.5e-5 para la banda de frecuencia de estimulación y 2.7e-5 para la banda alpha. Un test de comparación múltiple muestra que los valores de la potencia durante estimulación táctil en control y AESC son significativamente diferentes de la potencia en espontánea en ambas bandas de frecuencias y son estadísticamente indistinguibles entre ellas.

Aunque la potencia espectral media en ambas bandas de frecuencia en control no difiere estadísticamente de la de AESC (Fig. 57A y 57B) en la mayoría de los experimentos se ha observado un incremento en la potencia provocado por la estimulación de la corteza.

Este resultado concuerda con anteriores observaciones de la facilitación de la respuesta al estímulo provocada por la estimulación eléctrica de la corteza SI (Malmierca and Nuñez 1998, 2004; Canedo and Aguilar 2000; Aguilar *et al.*, 2003). Para cuantificar el porcentaje de neuronas que exhibe cada uno de los diferentes tipos de efecto ante la estimulación eléctrica de la corteza, evaluamos el número de incrementos de la potencia espectral (efecto I), el número de No-efecto (cuando la diferencia es despreciable), y el número de decrementos (efecto D). Para decidir sobre el tipo de efecto usamos el incremento relativo de la potencia en una cierta banda de frecuencia:

$$\Delta E = \frac{E_{\text{AESC}} - E_{\text{cntr}}}{(E_{\text{AESC}} + E_{\text{cntr}})/2}$$

donde E_{cntr} y E_{AESC} son la potencia espectral en control y AESC. Si el incremento absoluto es menor del 5% lo designamos como No-efecto, de otra forma de acuerdo al signo del incremento decidimos en el efecto I o en D.

La figura 57C muestra que de hecho que en AESC la mayoría de los casos (66% y 69% para las bandas de frecuencia del estímulo y alpha, respectivamente) la potencia incrementa, es decir, tenemos un efecto I tras la estimulación de la corteza. En el 17% y 14% de los casos en las bandas de frecuencia del estímulo y alpha respectivamente la estimulación eléctrica de la corteza no provoca ningún efecto sobre la potencia. Y, finalmente el 17% de los casos para las dos bandas de frecuencia presenta un efecto D.

Podemos concluir que la facilitación de la respuesta neuronal que media la vía corticofugal se manifiesta no sólo en el incremento del número de disparos sino en la ordenación del patrón de respuesta.

Efecto de la estimulación eléctrica de la corteza SI sobre la coherencia al estímulo

Debemos recalcar que la coherencia es una medida normalizada del espectro cruzado entre dos señales, y por tanto sus implicaciones están estrechamente unidas al dominio de frecuencias tanto para el tren de disparos neuronal como para los eventos de estimulación. El estímulo tiene una frecuencia fija de 1 Hz (con pequeñas variaciones debidas al montaje experimental). De acuerdo a ello, estudiamos la coherencia wavelet de la respuesta neuronal a la estimulación táctil únicamente en la banda de frecuencia del estímulo cuyos límites hemos fijado en [0.83-1.16] Hz.

Para estudiar el efecto de la estimulación de la corteza evaluamos la coherencia al estímulo media en control C_{control}^m y en AESC C_{AESC}^m . La figura 4A muestra el valor absoluto del incremento de la coherencia $|\delta C^m| = |C_{\text{AESC}}^m - C_{\text{cntr}}^m|$ como función de la coherencia media $C^m = (C_{\text{AESC}}^m + C_{\text{control}}^m)/2$ para la base de datos experimentales. Como era esperable la gráfica muestra una fuerte tendencia lineal del incremento de coherencia que es menor para valores altos de la coherencia media. Ajustando el modelo (10) a los datos por mínimos

cuadrados obtenemos $\alpha = 0.41$ (línea sólida en la figura 58A). Por tanto, para un valor dado de la coherencia wavelet, usando (10) podemos evaluar la expectación del valor absoluto del incremento de coherencia y definir así los efectos I, D y No-efecto provocados por la estimulación de la corteza (Fig. 58A).

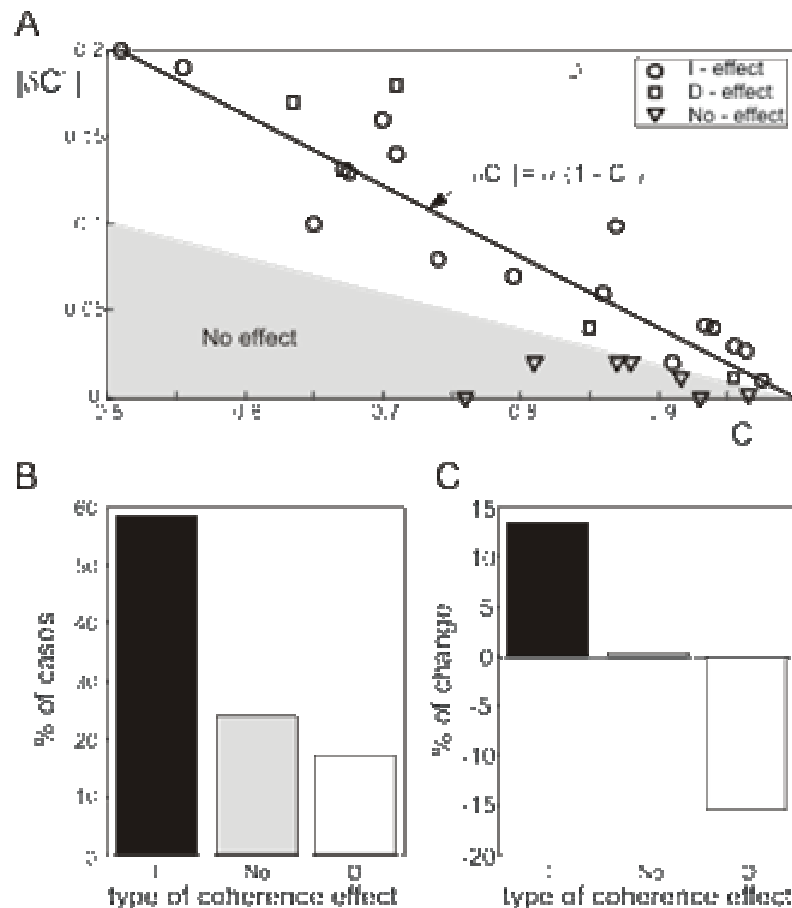


Figura 58. Efecto de la activación eléctrica de la corteza SI sobre la coherencia wavelet de la respuesta de las neuronas de proyección en el núcleo gracilis a la estimulación táctil de sus campos receptivos. A) El valor absoluto del incremento de la coherencia $|\delta C^m|$ en función de la coherencia media global C^m muestra una fuerte tendencia lineal. La recta sólida es el mejor ajuste de los datos al modelo. El área gris delimita la región de No-efecto (puntos mostrados como triángulos) donde el valor del incremento de la coherencia observado experimentalmente es menor que un 50% del esperado. Los círculos y cuadros corresponden a los tipos de efecto I (incremento) y D (decremento) ante la estimulación de la corteza SI. B) Porcentaje de neuronas que exhiben los tipos de efecto I, No y D. C) Cambios relativos (incremento o decremento) de la coherencia para los efecto I y D.

La figura 58B muestra el porcentaje de los diferentes tipos de efecto ante la estimulación eléctrica de la corteza SI. En la mayoría de los casos (59%) la

estimulación eléctrica de la corteza SI facilita la respuesta neuronal haciéndola más coherente al estímulo táctil. En el 24% no hay cambios en la coherencia y en el 17% se observa en decremento. El valor del incremento relativo de la coherencia para los efectos I y D es el mismo: 13% y 15%, respectivamente (Fig. 58C).

Destacamos que el incremento positivo de la coherencia (reproducibilidad de la respuesta neuronal a la estimulación táctil) se observó en un ligeramente menor número de casos que el porcentaje de casos de efecto I sobre la potencia en la banda de frecuencia del estímulo (59% en la figura 58B frente a 66% en la figura 57C), lo que confirma que un incremento de la potencia espectral no va necesariamente acompañado de un incremento de la coherencia. Es mas, esto sugiere que los posibles cambios que ocurren en el patrón de respuesta al estímulo se deben a la vía corticofugal mas que aun simple incremento de la tasa de disparo.

Para corroborar si el incremento de la coherencia wavelet al estímulo está correlacionado con las características convencionales de la actividad neuronal, representamos el incremento de la tasa de disparo media $\delta FR = FR_{\text{AESC}} - FR_{\text{cntr}}$ y el incremento de la amplitud del pico respuesta del PSTH $\delta A_{\text{PSTH}} = A_{\text{AESC}} - A_{\text{cntr}}$ frente a δC^m (Fig. 59).

En dichas gráficas un punto perteneciente a los cuadrantes I o III corresponden a una correlación positiva entre las correspondientes medidas, es decir un incremento o decremento de la coherencia va acompañado con un efecto análogo en las otras características, mientras que los cuadrantes II y IV establecen el efecto contrario o anti-correlación. De acuerdo a los hallazgos descritos es de esperar que una mejora en la reproducibilidad de la respuesta neuronal al estímulo táctil (es decir, $\delta C^m > 0$) no se reflejase en la tasa de disparo, pero si en el PSTH y por tanto observar $\delta A_{\text{PSTH}} > 0$.

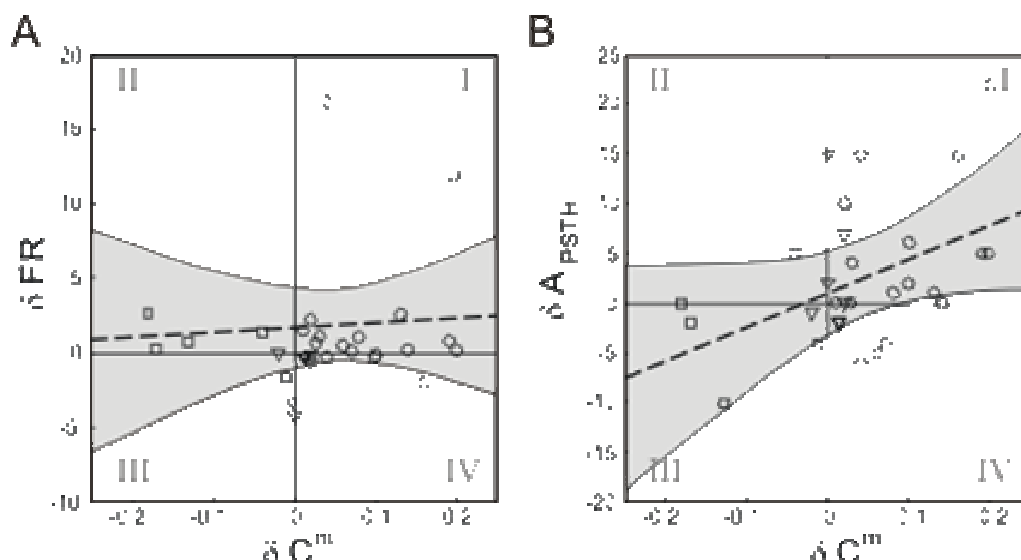


Figura 59. Incremento de la tasa de disparo media (A) y de la amplitud del pico del PSTH (B) frente al incremento de la coherencia de la respuesta neuronal al estímulo. Los cuadrantes I y III corresponden a una correlación positiva entre las 2 características (es decir, un incremento o decremento de una característica se acompaña del mismo efecto en la otra), mientras que los cuadrantes II y IV corresponden a una correlación negativa o anticorrelación (es decir, cuando un efecto en una característica es contrario al efecto en la otra). Las líneas discontinuas y las áreas en gris alrededor muestran el mejor ajuste lineal de los datos y los límites de su intervalo del 95% de confianza. La dirección y la posición del ajuste implican la ausencia de correlación entre la tasa de disparo y la coherencia y una correlación positiva de la amplitud del pico del PSTH y la coherencia. Sin embargo, notar la presencia de casos donde los cambios en la amplitud del PSTH no se corresponden con los cambios en la coherencia.

De hecho, la figura 59A muestra que los puntos en el caso de la tasa de disparo media se distribuyen casi arbitrariamente sobre el plano. El ajuste lineal de los datos lo confirma. La recta y su intervalo de confianza del 95% son esencialmente horizontales y no muestran una correlación significativa entre las medidas. Encontramos una gráfica totalmente diferente para el incremento de la amplitud del pico del PSTH (Fig. 59B). La recta ajustada y su intervalo de confianza del 95% tienen una pendiente positiva notoriamente positiva. Por tanto, tal y como se esperaba, tenemos una correlación positiva de los cambios provocados por la estimulación eléctrica de la corteza SI entre la coherencia y la amplitud del pico del PSTH. Sin embargo destacamos que la mejora (o reducción) de la coherencia al estímulo no siempre se acompaña de un incremento (o decremento) en la amplitud del PSTH. Esto supone que para un número considerable de experimentos la medida del PSTH puede predecir

erróneamente el efecto de cambio de la coherencia de la respuesta neuronal al estímulo.

Oscilación de frecuencia ultra baja en la coherencia

En la figura 51E habíamos observado cualitativamente que la coherencia al estímulo táctil oscilaba lentamente en el tiempo tanto en control como AESC. Vamos a cuantificar dichas oscilaciones y a estudiar su posible papel funcional. La figura 60A muestra dos secciones de la coherencia en la banda de frecuencia del estímulo, entre [0.083, 1.16] Hz. Para examinar la coherencia media y su modulación en el tiempo promediamos la coherencia local sobre la banda de frecuencia del estímulo. Las series temporales obtenidas para control $C_{\text{control}}(t)$ y después de la estimulación de la corteza SI $C_{\text{AESC}}(t)$ proporcionan una medida de la reproducibilidad de la respuesta neuronal a los eventos de estimulación (Fig. 60A, panel inferior). Al principio de la estimulación (hasta unos 20 s) la coherencia respuesta al estímulo es mayor en AESC que en control. Después ambas características exhiben una caída (es decir, los disparos neuronales se vuelven menos coherentes a los eventos de estimulación) y no hay gran diferencia entre las coherencias. A lo largo de la estimulación se puede observar una oscilación lenta de amplitud relativamente alta. Destacamos que el periodo de oscilación lenta es mucho más corto que la resolución temporal wavelet (alrededor de 10 a 15 s frente a 2 s), lo que asegura la correcta identificación del comportamiento oscilatorio de la coherencia.

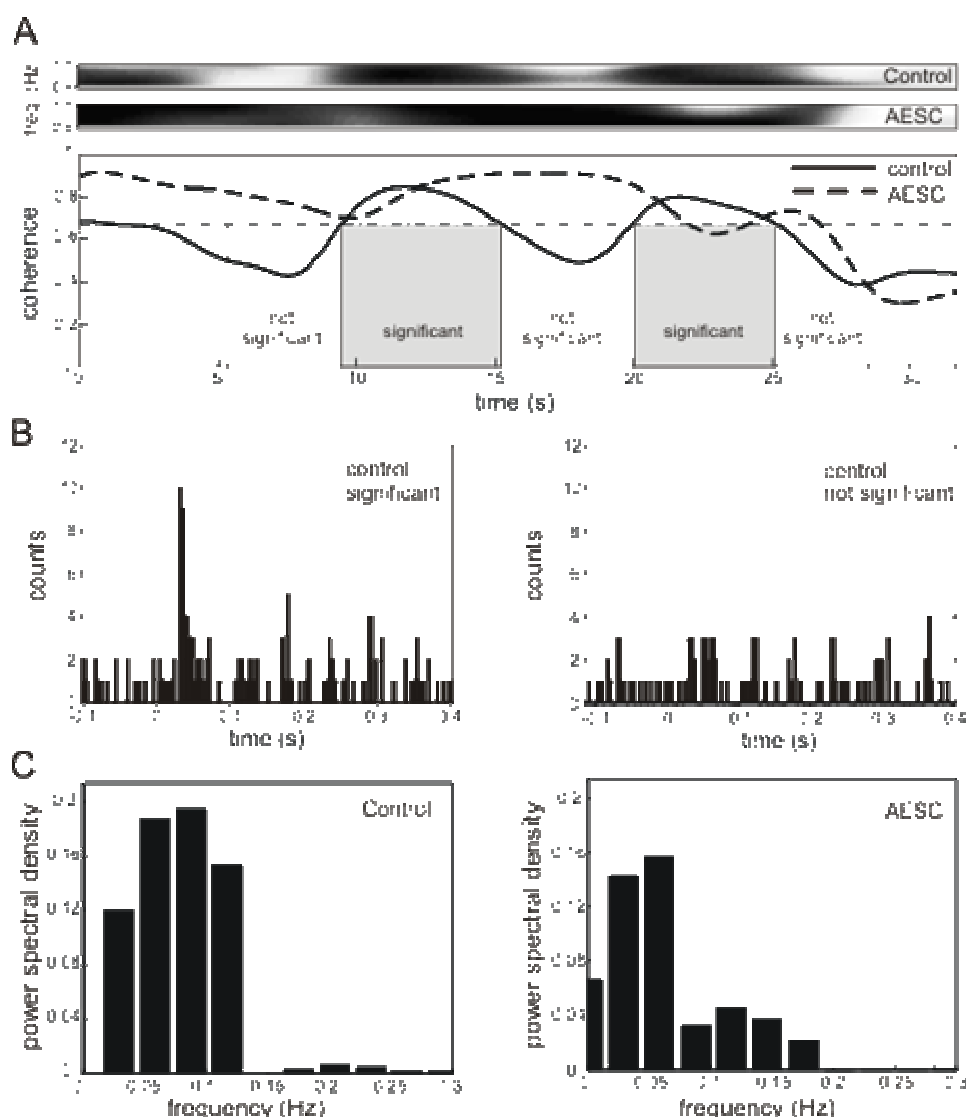


Figura 60. Comportamiento oscilatorio de la coherencia wavelet de la respuesta neuronal a los eventos de estimulación táctil en la banda de frecuencia del estímulo. A) Panel superior: Las franjas muestran la coherencia evaluada en la banda de frecuencia 0.83 – 1.16 Hz (correspondiente a la mostrada en la figura 1E entre las líneas horizontales) para control y AESC para una neurona representativa (la misma que en la figura 1). La intensidad de grises corresponde al valor de la coherencia local. Cero sobre el eje temporal x corresponde al comienzo de cada época. Panel inferior: Curvas que muestran la integral (promediada sobre la banda de frecuencia del estímulo) de la coherencia wavelet al estímulo de la respuesta neuronal a lo largo de las épocas de estimulación. La línea horizontal define el nivel de significancia estadística de la coherencia en la condición de estimulación control. De acuerdo a la significancia estadística definimos ventanas temporales de coherencia significativa (recuadros grises) y no significantes (recuadros blancos). B). PSTH de la respuesta neuronal en control evaluados sobre las ventanas temporales con coherencia superiores (izquierda) e inferiores (derecha) al nivel de significancia. En las ventanas de respuesta coherente la neurona muestra un pronunciado pico, mientras que se pierde en las ventanas no coherentes. C) Espectro de potencia Fourier de la oscilación de la coherencia wavelet en control y AESC.

La oscilación observada podría tener un papel funcional. De hecho, para la estimulación control la coherencia cae temporalmente por debajo del nivel de significancia (Fig. 51E, panel izquierda y Fig. 60A, panel inferior). Por tanto podemos definir ventanas temporales (segmentos) con coherencia por encima o debajo del nivel de significancia estadística. En la figura 60A esas ventanas se marcan con recuadros blancos y negros, seleccionadas de forma que la longitud total de los segmentos significantes y sean la misma. Obviamente, en ventanas con coherencia alta la neurona debería exhibir una fuerte relación funcional estímulo – respuesta. Sin embargo, cuando la coherencia al estímulo no es significativa su asociación funcional podría perderse. El PSTH (Fig. 51B, panel de en medio) no muestra ninguna evidencia de este fenómeno. Sin embargo, dividiendo el tren de disparos en dos partes de acuerdo a la significancia de la coherencia observamos diferencias esenciales en los PSTH de cada parte (Fig. 60B). En regiones con coherencia significativa la neurona exhibe una respuesta al estímulo bien pronunciada (Fig. 60B, panel izquierdo), mientras que el patrón de disparo se vuelve prácticamente descorrelacionado con el estímulo en las ventanas temporales de coherencia no significativa (Fig. 60B, panel derecho). Podemos interpretar este comportamiento como una pérdida temporal de la conectividad funcional entre el estímulo táctil y la neurona. Notamos además que la estimulación eléctrica de la corteza SI incrementa la coherencia respuesta al estímulo y permanece por encima del nivel de significancia prácticamente durante toda la estimulación y sólo después de alrededor de 27 s la coherencia se vuelve no significativa. En tal estado de “alerta” la neurona mantiene su acoplo funcional al estímulo sensorial enviando disparos coherentes al tálamo.

La figura 60C muestra la densidad espectral de Fourier de la coherencia en control y AESC. En el primer caso el espectro tiene un pico en 0.09 Hz, mientras que en AESC el pico cae en un valor de menor frecuencia y amplitud, 0.06 Hz.

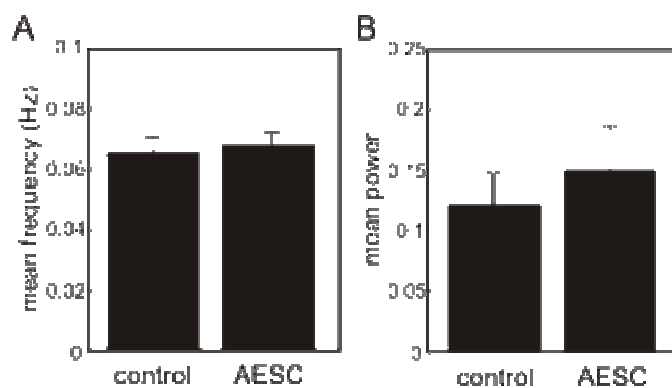


Figura 61. Propiedades estadísticas de las oscilaciones ultra-lentas de la coherencia de respuesta al estímulo de las neuronas de proyección del núcleo gracilis en control y AESC. A) Frecuencia de oscilación media, B) potencia de oscilación media.

La figura 61 muestra la frecuencia media y la potencia de las oscilaciones de la coherencia promediada sobre la población durante la estimulación táctil en control y AESC. La frecuencia media en control es de 0.065 Hz, ligeramente menor que la correspondiente a AESC, 0.068 Hz. Sin embargo, no se confirma una diferencia estadística entre las dos medias. De igual forma, la potencia media de la oscilación es ligeramente mayor, aunque no significativa, en el caso AESC que en control. Podemos concluir que la frecuencia y amplitud de la frecuencia ultra baja de las oscilaciones de la coherencia promediadas en toda la población neuronal no se ven afectadas por la estimulación eléctrica de la corteza SI.

Caracterización espectral de la respuesta neuronal ante diferentes frecuencias de estimulación

Acabamos de caracterizar la respuesta de las neuronas a estímulos táctiles rítmicos a una frecuencia de 1 Hz, donde hemos observado la presencia de oscilaciones de muy baja frecuencia en la curva promedio de la coherencia wavelet en la banda espectral en torno a la frecuencia de estimulación. El paso siguiente es estudiar cómo varían dichas características espectrales con la frecuencia de estimulación. Para ello se realizan los mismos experimentos pero con el siguiente protocolo de estimulación: 1 – 3 – 5 – 10 – 1 Hz.

El primer análisis que realizamos sobre los trenes de disparos de la población neuronal es calcular la tasa de disparos, en este caso definida como el número de disparos por estímulo. La figura 62 muestra el promedio de la

tasa de disparos sobre la población y su error relativo. Observamos una clara tendencia a disminuir la tasa de disparo con el aumento de la frecuencia de estimulación. Las neuronas responden de forma menos constante a los estímulos de alta frecuencia, alternando épocas silentes con otras de baja actividad. También destacamos la capacidad de recuperación del comportamiento neuronal, en este caso estudiada para una frecuencia de estimulación de 1 Hz, ya que vuelve a disparar con la misma tasa tras una secuencia de estímulos a 3, 5 y 10 Hz.

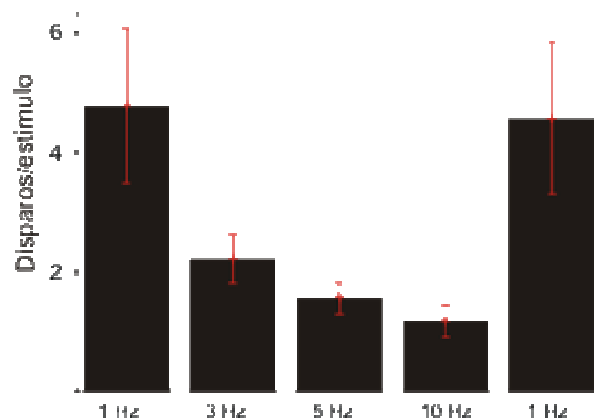


Figura 62: Tasa de disparo (disparos/estímulo) para las diferentes frecuencias de estimulación para la población neuronal. Observamos un decremento de la tasa de disparo con la frecuencia de la estimulación.

Como acabamos de ver (Fig. 60) las neuronas no responde de igual forma a estímulos idénticos, comportamiento que se acentúa cuando la frecuencia de estimulación aumenta. Venimos usando la coherencia wavelet como una medida de la reproducibilidad de la respuesta en el tiempo, y por tanto en este caso puede ser de gran ayuda para caracterizar la respuesta neuronal a estímulos rítmicos a diferentes frecuencias.

El primer paso para el cálculo de la coherencia wavelet es la estimación del espectro de potencias. En concreto, por estar interesados en la frecuencia inducida por el estímulo, calculamos la potencia promedio en la banda de frecuencia correspondiente al estímulo. En este caso no observamos una tendencia de cambio ante la frecuencia de estimulación (Fig. 63).

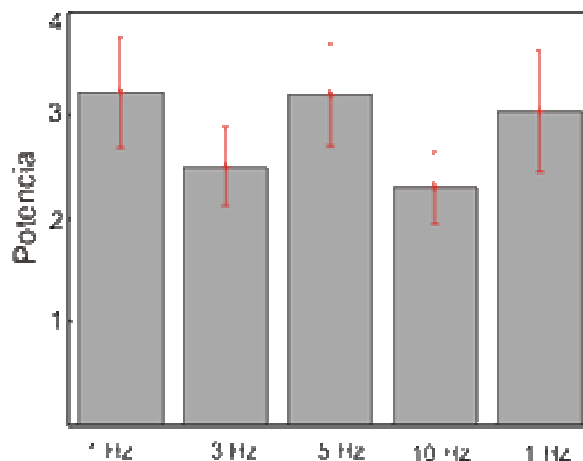


Figura 63: Potencia promedio sobre la población neuronal en las frecuencias de estimulación.

Observamos un comportamiento similar al de la potencia en la coherencia wavelet promedio en la banda de frecuencia del estímulo (Fig. 64). En 3 y 10 Hz hay una disminución de la coherencia respecto a 1 Hz, sin embargo a 5 Hz la coherencia alcanza valores muy próximos a los observados para 1 Hz, al igual que sucediese con la potencia.

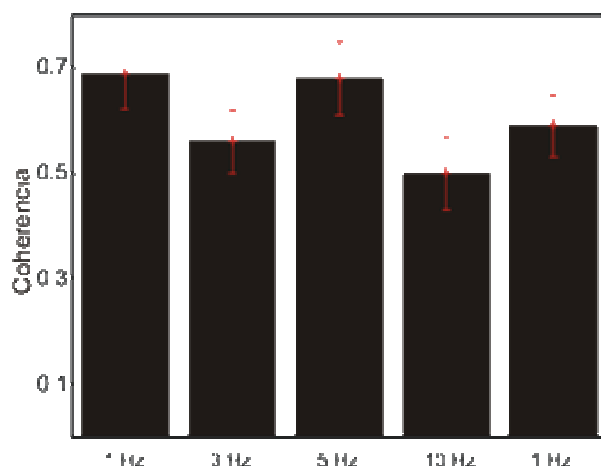


Figura 64: Coherencia promedio sobre la población neuronal en las frecuencias de estimulación.

Como hemos dicho al aumentar la frecuencia de estimulación las neuronas no responden de igual forma a estímulos idénticos, muy al contrario adoptan un comportamiento silente ante algunos estímulo dentro de la época de estimulación a una frecuencia dada. Por ello, la coherencia wavelet promedio no es un buen indicador de los cambios que ocurren. Aprovechamos

las ventajas que nos ofrece la coherencia wavelet para poder observar las curvas promedio en la banda de frecuencia del estímulo para un registro dado en función del tiempo (Fig. 65). Como podemos observar las curvas presentan cambios cada vez más bruscos, llegando incluso a niveles de coherencia cero como ocurre para la frecuencia de estimulación de 10 Hz, debido a la disminución momentánea de la actividad de disparo.

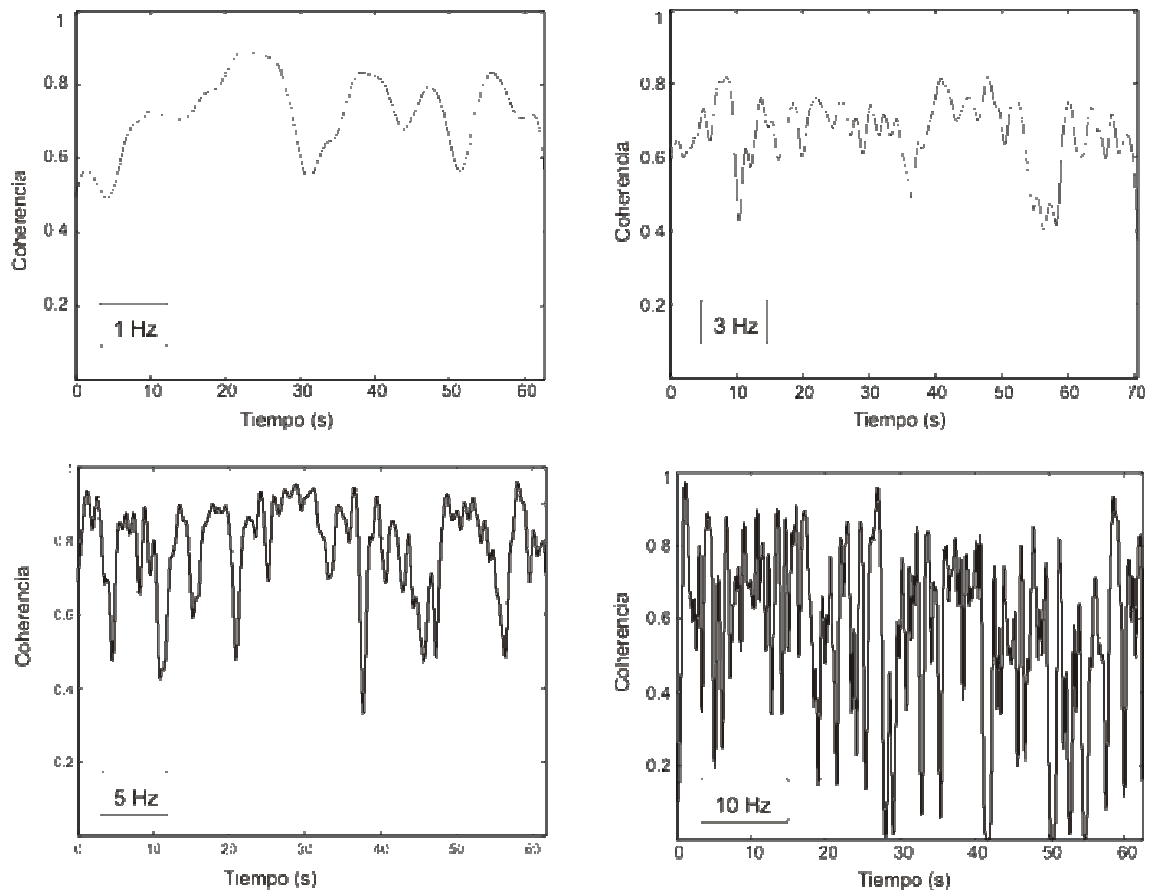


Figura 65: Curvas ejemplo de la coherencia promediada en la banda espectral correspondiente a la frecuencia de estimulación.

Una medida de tal variación es la desviación estándar de las curvas para cada registro. La figura 66 muestra el promedio sobre la población de la desviación estándar de dichas curvas y observando que aumenta con la frecuencia de estimulación como intuíamos.

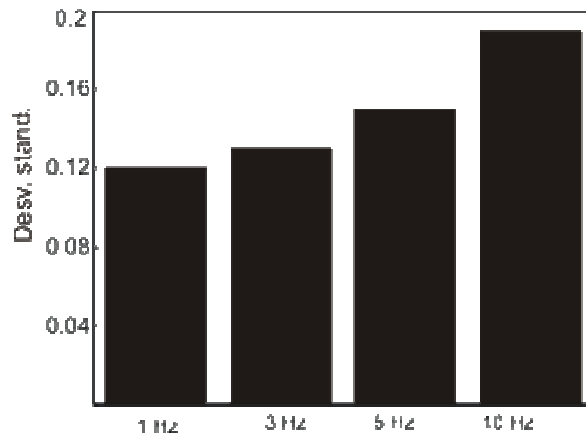


Figura 66: Desviación estándar promedio de las curvas de coherencia

En estas curvas podemos ver la presencia no sólo de oscilaciones muy lentas sino también la aparición de frecuencias más altas. La figura 67 muestra los espectros de potencias de las curvas ejemplo mostradas en la figura 65. Tal y como hemos descrito anteriormente ante una frecuencia de estimulación de 1 Hz tenemos una clara oscilación a una muy baja frecuencia, 0.06 Hz. A medida que aumenta la frecuencia de estimulación el espectro es cada vez más ancho y complejo. Se mantiene la oscilación ultra lenta por debajo de 0.1 Hz pero aparecen frecuencias más altas hasta completar el espectro en el rango [0,1] Hz para una frecuencia de estimulación de 10 Hz.

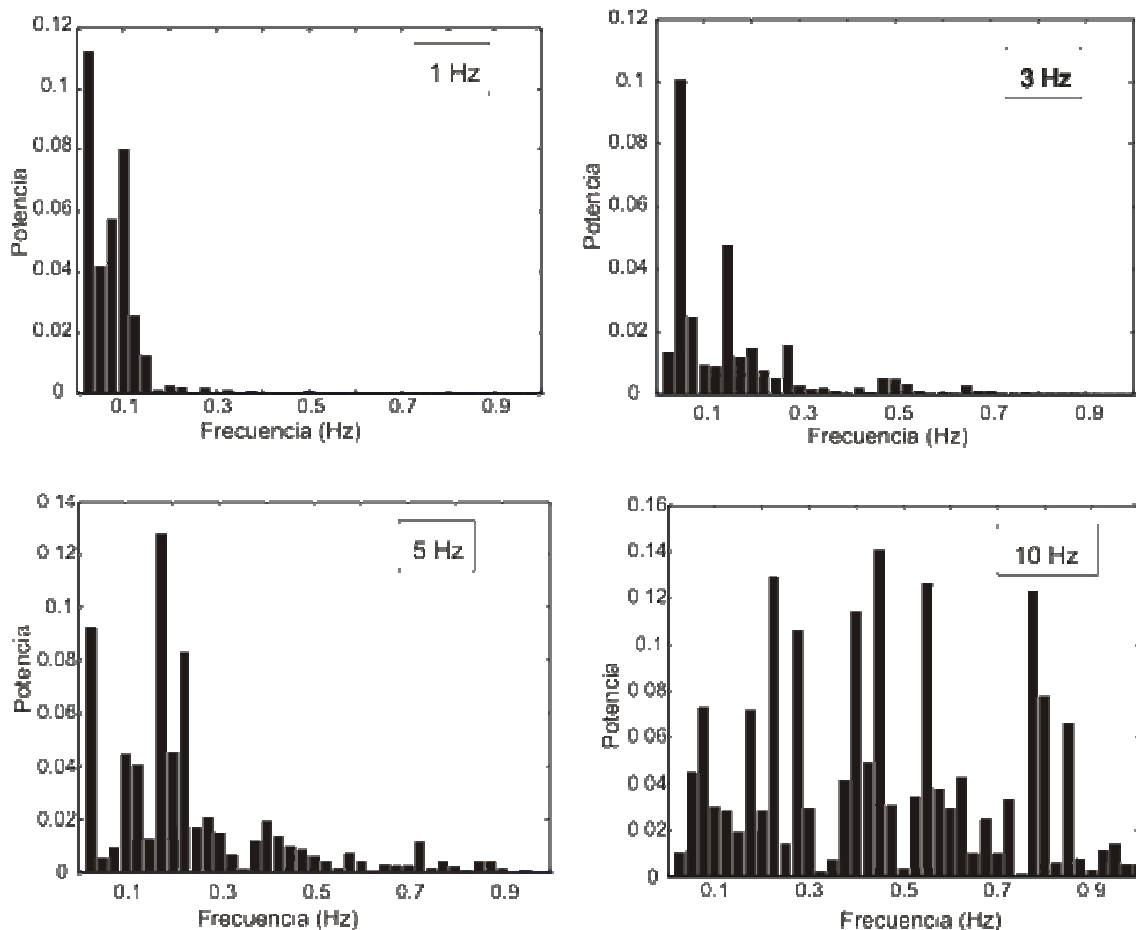


Figura 67: Espectro de potencias de las curvas mostradas en la figura 4

Hallamos el espectro de potencias de las curvas para cada registro y sobre éste calculamos la frecuencia media y desviación estándar del espectro, promediándolos sobre la población. Consideramos aquellas frecuencias cuya potencia sea al menos el 10% de la potencia de la frecuencia predominante.

La figura 68 muestra los resultados. Vemos que la frecuencia media aumenta con la frecuencia de estimulación (Fig. 68A), al igual que la desviación estándar (Fig. 68B), debido a que el espectro se va ensanchando hacia la derecha y por tanto la frecuencia media se desplaza a valores mayores y la desviación estándar aumenta. Esto concuerda con el hecho de que la coherencia wavelet respuesta a la estimulación táctil en la banda correspondiente a la frecuencia de estimulación cambia sus propiedades espectrales, oscilando con un patón más complejo y variado.

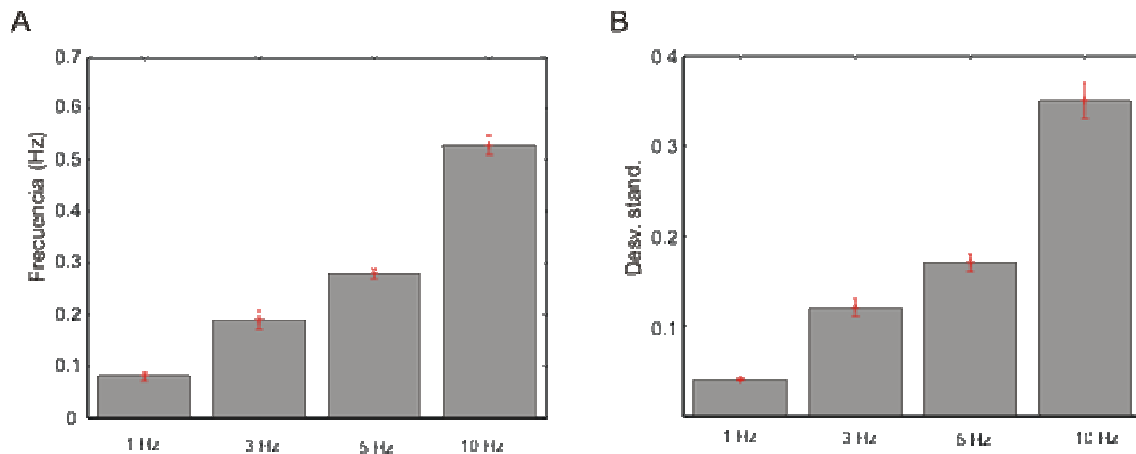


Figura 687: Propiedades espectrales de la coherencia wavelet en la banda correspondiente a la frecuencia de estimulación. A) Frecuencia media de oscilación de la curva. B) Desviación estándar del espectro de potencias.

6.4.2 Respuesta de las neuronas del núcleo trigémino espinal ante un estímulo de distracción

La actividad sináptica repetitiva puede inducir modificaciones persistentes de la eficacia sináptica en muchas regiones del cerebro en forma de potenciación a largo plazo (LTP) y depresión a largo plazo (LTD). Tal plasticidad sináptica proporciona un mecanismo celular para el refinamiento, que depende de la experiencia del desarrollo de los circuitos neuronales y del aprendizaje y funciones de la memoria del cerebro. Los tiempos precisos de disparo pre y post-sináptico son frecuentemente críticos para determinar si una sinapsis de excitadora sufre LTP o LTD.

Estudios electrofisiológicos recientes indican la existencia de un importante procesamiento somatosensorial en el núcleo trigémino, modulado por la proyección corticofugal desde la corteza somatosensorial que puede enfocarse sobre un estímulo en particular mejorando así la respuesta neuronal a éste. Por otra parte, la respuesta sensorial en el núcleo trigémino podría disminuir ante un estímulo novel, de distracción. Este decrecimiento de la respuesta puede interpretarse como una interferencia sensorial. Nuestro objetivo ha sido demostrar que la interacción sensorial podría ocurrir ya en las primeras estaciones de relevo de la vía somatosensorial trigeminal cambiando no sólo el número de disparos inducidos por el estímulo sino la coherencia espectro-temporal del tren de disparos neuronal con los eventos de estimulación.

La información somatosensorial procedente de la cara (incluyendo la boca y la cornea) converge, se procesa y finalmente envía al tálamo desde el complejo trigeminal. Para estudiar los mecanismos de representación de la información y procesamiento del sistema sensorial de las vibrisas en roedores, el trigémino es una buena referencia por ser un sistema particularmente bien organizado y estructurado. De hecho, las vibrisas largas mystaciales de la rata están organizadas en una matriz característica y altamente conservada de cinco columnas y hasta siete arcos (Brecht *et al.*, 1997; Welker, 1971). Las ratas usan las vibrisas faciales para realizar varias tareas de discriminación tátil y diversos comportamientos (Carvell & Simons, 1990; Gustafson & Felbain-Keramidas, 1977). La información sensorial desde las vibrisas llega al complejo trigeminal, que está organizado en tres núcleos sensoriales y uno motor. El núcleo trigeminal sensorial incluye: núcleo Principal (Pr5), núcleo espinal (Sp5) y el núcleo mesencefálico (Me5). El núcleo Sp5 se divide en tres subnúcleos: oralis (Sp5O), interpolaris (Sp5I) y caudalis (Sp5C). En las aferentes del complejo trigeminal primario y las neuronas forman los “barriletes”. Se distinguen tres tipos de neuronas en el núcleo trigémino de la rata, distinguibles desde el punto de vista morfológico y fisiológico: barriletes, interbarriletes e interneuronas GABAérgicas o glicinérgicas (Ressot *et al.*, 2001; Viggiano *et al.*, 2004).

Los núcleos trigeminales Pr5 y Sp5 son relevos sinápticos obligatorios para la información somatosensorial que se origina en la vibrisa mystacial o “whisker” a uno de los lados de la cara del núcleo medial posterior ventral contralateral (VPM) del tálamo (Peschanski, 1984; Smith, 1973). Las neuronas de proyección Pr5 se caracterizan por tener un campo receptivo de una sola vibrisa, mientras que el resto de la población tiene campos receptivos múltiples (Friedberg *et al.*, 2004; Veinante & Deschênes 1999). Las neuronas talámicas Sp5 responden a más de cuatro vibrisas, y tienen grandes campos receptivos (Friedberg *et al.*, 2004; Woolston *et al.*, 1982). Por tanto, a nivel neuronal hay un alto grado de integración de la señal de entrada táctil desde múltiples vibrisas en la mayoría de las neuronas trigeminales. En el tálamo contralateral (VPM) la información de los barriletes es recibida por un grupo de neuronas llamadas barriloides (Sugitani *et al.*, 1990), información sensorial que llega a

través de la vía lemniscal. Además, la vía paralemniscal transporta información menos precisa desde las neuronas Sp5 al núcleo talámico posterior contralateral (Po), y también a VPM (Patrick y Robinson, 1987). También hay una organización similar en la corteza somatosensorial primaria (SI). La información de las vibrisas está organizada en columnas llamadas barriles y cada uno recibe información desde unas pocas vibrisas (Erzurumlu & Jhaveri, 1990; Hutson & Masterton, 1986). Existe una proyección de retroalimentación (*feed-back*) desde SI así como desde la corteza motora primaria al núcleo trigémino. Es una proyección cruzada monosináptica que va por el tracto piramidal con una somatopía altamente precisa (Dum y Tolbert, 1982). Las propiedades electrofisiológicas y la acción de esta proyección son poco conocidas. Haciendo un paralelismo, en los núcleos de la columna dorsal esta proyección juega un papel relevante en la modulación de la respuesta somatosensorial, siendo capaz de modificar el tamaño del campo receptivo e incrementar la agudeza del sistema (Malmierca y Nuñez, 1998, 2004, 2007, Mariño *et al.*, 2000).

Las señales de entrada periférica y corticofugal al núcleo trigémino son glutamatergicas (Feliciano y Potashner, 1995). Existen evidencias electrofisiológicas de actividad GABAérgica en el complejo trigeminal que controlan el tamaño de los campos receptivos. Así los antagonistas GABA_A incrementan el tamaño del campo receptivo en el núcleo trigémino mientras que el agonista lo reduce (Takeda *et al.*, 2000). Además se ha mostrado que las interneuronas glicinérgicas inhiben la respuesta somatosensorial en el núcleo trigémino (Ressot *et al.*, 2001). Las células barriletes exhiben un EPSP monosináptico seguido de un IPSP disináptico después de la estimulación del nervio trigeminal. El IPSP disináptico debería estar mediado por un circuito de alimentación hacia adelante (*feed-forward*). Las células GABAérgicas de Pr5 actúan principalmente como interneuronas inhibitorias en este circuito. Un IPSP sin ser precedido de un EPSP podría ser evocado por células barriletes al estimular el nervio trigémino, sugiriendo la existencia de un circuito inhibitorio separado, a parte del circuito inhibitorio de alimentación hacia adelante (Lo *et al.*, 1999).

En el núcleo trigémino también se ha descrito plasticidad sináptica. Un día después de nacer (P1), cuando los barriletes están en la etapa de

formación, una estimulación a alta frecuencia de los aferentes ganglionares trigeminales produce una depresión a largo plazo (LTD) en las respuestas sinápticas. Entre P3-7, cuando los barriletes se consolidan, una gran actividad de los axones ganglionares trigeminales lleva a una potenciación a largo plazo (LTP) de las respuestas (Guido *et al.*, 2004). Esto sugiere que LTD puede actuar como mecanismo que elimina selectivamente la señal de entrada de múltiples vibrisas y LTP consolidaría las señales de entrada que están conectadas.

Los resultados sobre las neuronas de proyección del DCN sugieren que la arquitectura temporal de la respuesta neuronal es crucial para determinar la facilitación o depresión de una neurona post-sináptica y dejan intuir la presencia de un filtro de atención ya en las primeras estaciones del procesamiento sensorial. Para comprobar esta hipótesis estudiamos la respuesta de las neuronas del núcleo trigémino a estímulos táctiles y su modificación cuando se presenta simultáneamente un estímulo nuevo, de distracción. El protocolo de estimulación establecido supone que tras un periodo de 30 segundos de actividad espontánea se estimula la vibrisa principal, provocando su deflexión, en tres condiciones diferentes:

1. *Estimulación control*: La estimulación táctil consiste en una secuencia de 30 pulsos de duración 20 ms a 1 Hz sobre la vibrisa principal
2. *Interferencia sensorial Ipsilateral*: Simultáneamente a la estimulación táctil control se aplica un estímulo de distracción hand-held brush a las vibrisas localizadas fuera del campo receptivo de la neurona registrada.
3. *Interferencia sensorial Contralateral*: El mismo protocolo que en 2) pero el estímulo de distracción se aplica sobre un área de la piel en el lado contralateral del cuerpo.

La respuesta a estímulos táctiles se ha estudiado en el núcleo Sp5c, cuya participación en el procesamiento sensorial es todavía poco conocido. Se han estudiado 20 registros neuronales (trenes de disparos) con una baja tasa de disparo en espontánea, 0.9 ± 0.9 disparos/s, y un campo receptivo que corresponde a una o dos vibrisas. El estímulo táctil control provoca una tasa de disparos de 2.1 ± 0.4 disparos/estímulo y una latencia media de 20.1 ± 0.9 ms.

Interferencia sensorial

La aplicación simultánea de otro estímulo táctil, que ejerce de distracción, en la vibrisa contralateral reduce la tasa de disparos desde 2.1 ± 0.4 hasta 1.7 ± 0.3 disparos/estímulo (un 81% respecto al control, con un valor-p de 0.02) en el 70% de las neuronas (Fig. 69). Denotamos a este decrecimiento de la respuesta neuronal causada por la aplicación de un estímulo de distracción en el lado contralateral como interferencia-sensorial-contralateral, como se describió en la corteza SI (Alenda y Nuñez, 2004, 2007). Distinguimos tres tipos de efectos para la tasa de disparo: Incremento (I), No cambio (No) y decremento (D). Ante la estimulación contralateral un 9% de las neuronas no alteraron su tasa de disparo, un 21% de incrementaron y la mayoría, un 70%, disminuyeron su tasa de disparo. Un efecto similar de interferencia sensorial se observa cuando se aplica un estímulo táctil de distracción en la vibrisa ipsilateral simultáneamente al estímulo sobre la vibrisa principal, lo que denotamos como interferencia-sensorial-ipsilateral. La respuesta en este caso se reduce a 1.6 ± 0.5 disparos/segundo (76% del valor control, valor-p 0.01) en el 82% de las neuronas (fig. 69). El resto de las neuronas no se han visto afectadas.

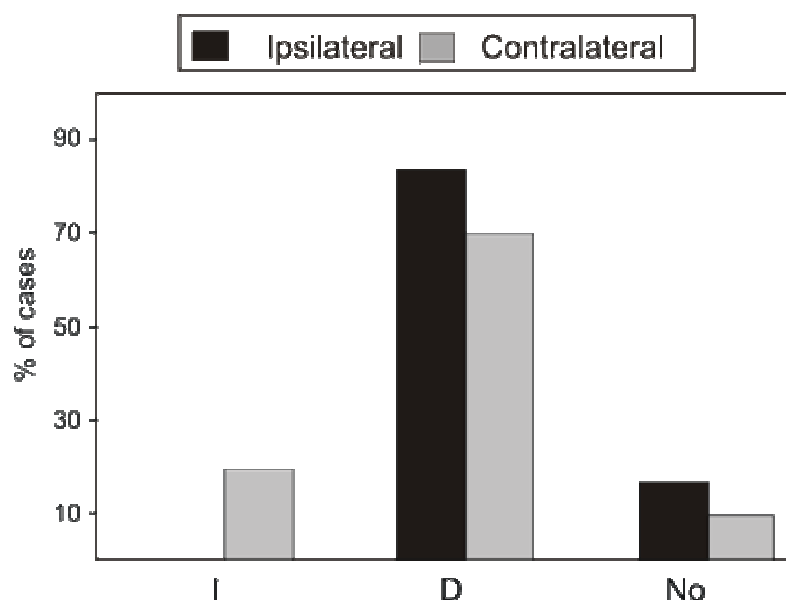


Figura 69: Porcentaje de tipos de efectos I, NO y D para la tasa de disparo ante la distracción ipsi y contralateral.

La figura 70 ilustra los PSTHs que muestra la respuesta típica en las tres condiciones experimentales descritas y que demuestran el decrecimiento de la respuesta táctil durante la aplicación de un estímulo de distracción, en la figura 70B el pico es más estrecho y en 70C es además más bajo. La tasa de disparo de una célula trigeminal no se ha visto afectada después de la interferencia sensorial (0.9 ± 0.9 disparos/s frente a 1.0 ± 0.9 disparos/s). De igual forma, la latencia en control tampoco difiere. La reducción del número de disparos evocados por el estímulo (alrededor del 20%) representa una disminución significativa de la transmisión sensorial cuando ocurren simultáneamente diferentes estímulos sensoriales.

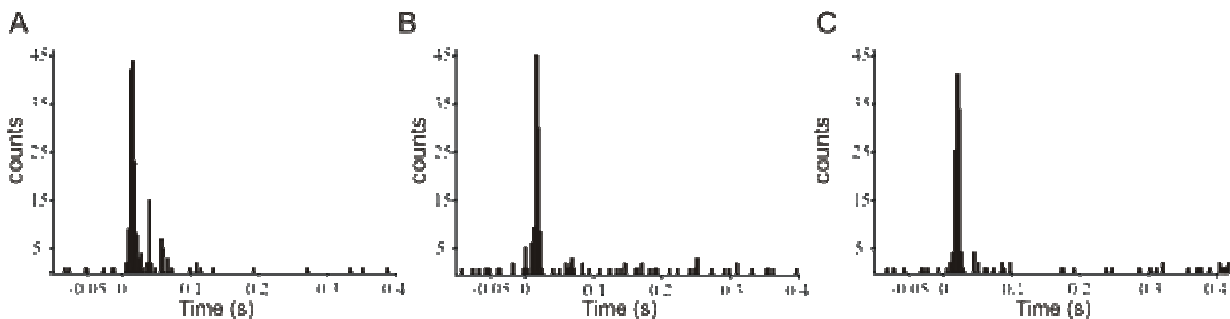


Figura 70: PSTHs de la respuesta neuronal a los eventos de deflexión de la vibrisa en control (A) y con distracción ipsi (B) y contralateral (C)

Nuestros resultados sugieren una clara tendencia a la disminución de la respuesta sensorial durante la interferencia sensorial. Sin embargo, los resultados expuestos hasta ahora no evidencian los cambios dinámicos que ocurren en el patrón de disparo. El patrón de disparo evocado por el estímulo es crucial en la transmisión sensorial ya que tal y como han demostrado varios estudios el input pre-sináptico genera diferentes tipos de plasticidad sensorial. Por tanto, la transformada wavelet del tren de disparo permite estudiar dicha hipótesis.

El espectro de potencias wavelet nos permite estudiar las propiedades espectrales y su evolución en el tiempo. La figura 71 muestra un ejemplo representativo del espectro de potencias wavelet de un tren de disparos neuronal en espontánea y durante la deflexión de la vibrisa en control y durante las interferencias ipsi y contralateral.

La actividad de disparo espontánea es irregular, con un patrón temporal no repetitivo. El valor máximo de la potencia espectral se localiza en los eventos de disparo y no en estructuras de larga duración (Fig. 71A). Sólo entre 20 y 25 segundos se observa un débil pico de periodo 0.5 s que solapa con 1.5 s. La estimulación táctil de la vibrisa genera una pronunciada respuesta, que ya podía observarse en el PSTH (Fig. 70A). Esto sugiere la presencia de un ritmo a la frecuencia del estímulo impuesta por el patrón de estimulación. De echo, la distribución de la potencia en control (Fig. 71B) muestra un ritmo permanente (estable) en la banda de frecuencia del estímulo, es decir, la neurona está funcionalmente asociada a los eventos de estimulación y de forma constante a lo largo de la estimulación control.

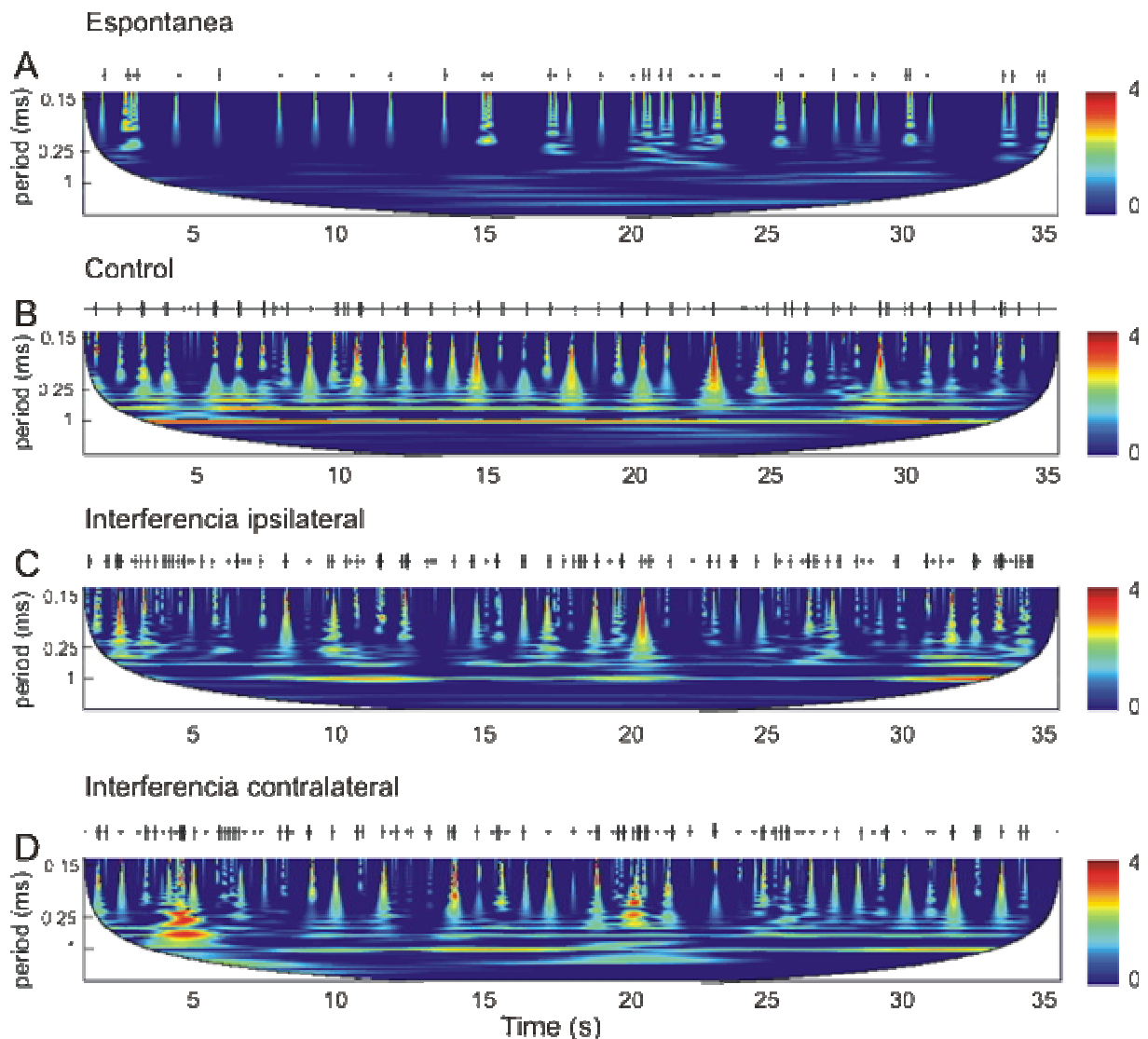


Figura 71: Tren de disparo neuronal (el mismo de la figura 2) su correspondiente espectro de potencias wavelet. La intensidad del color se

corresponde con la intensidad local espectral. Las áreas blancas cubren el cono de influencia. A) Actividad espontánea B) Respuesta periódica a los eventos de deflexión de la vibrisa en condiciones control; C y D) Respuesta a la estimulación táctil con distracción ipsi y contralateral, respectivamente. La distracción táctil reduce la ritmicidad de la respuesta neuronal a las deflexiones de la vibrisa en la banda de frecuencia (periodos) del estímulo.

La distracción sensorial influye de forma clara en la estabilidad de la respuesta neuronal a la deflexión de la vibrisa (Fig. 71C, D). La potencia a una frecuencia de 1 Hz decrece y se vuelve oscilatoria, es decir el pico de la amplitud no es persistente en el tiempo, lo que genera una oscilación de baja frecuencia. De hecho, en la figura 71C (distracción ipsilateral) la potencia máxima ocurre a los 11, 20 y 32 segundos, lo que corresponde a una oscilación lenta de frecuencia de 0.1 Hz. Dicha oscilación de la potencia espectral sucede debido a que la respuesta neuronal durante la distracción no es la misma a lo largo del tiempo, sino que presenta cierta variabilidad, es decir, la neurona dispara un número diferente de veces con un intervalo entre espigas diferente ante el mismo evento de estimulación. Destacamos, como ya hemos hecho, que este comportamiento dinámico no podría haberse observado con el PSTH (Fig. 70). Comparando la potencia espectral a 1 Hz en las diferentes condiciones experimentales podemos cuantificar el grado de influencia de la distracción táctil sobre la estabilidad (acoplo) de la respuesta neuronal a las deflexiones de la vibrisa. Sin embargo, para este propósito la coherencia wavelet es una herramienta más adecuada. En el caso bajo estudio, los eventos de estimulación inducen una actividad de disparo en la neurona. Por tanto, hablamos de acoplo unidireccional entre la neurona y el estímulo y nos centramos en la banda de periodos del estímulo. Para testar los efectos de la interferencia sensorial ipsi y contralateral sobre el procesamiento del estímulo evaluamos la coherencia wavelet para cada tren de disparos en cada una de las condiciones experimentales de distracción, y se compraran con las halladas en control.

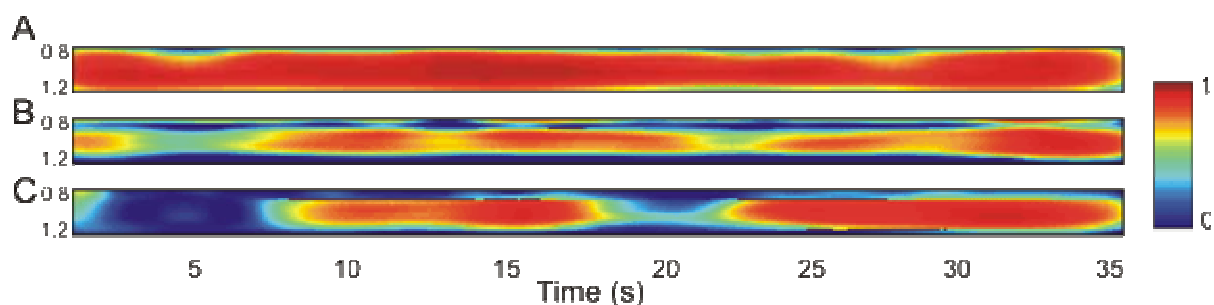


Figura 72: Coherencia wavelet de la respuesta de una neurona representativa (la misma de las figuras 2 y 3) a los eventos de deflexión de la vibrisa evaluados en la banda de periodo del estímulo 0.86 -1.2 s, en control (A), y durante la distracción ipsi (B) y contralateral (C). La distracción sensorial lleva a una disminución del nivel de coherencia y una baja frecuencia de oscilación. La intensidad del color corresponde al nivel de la coherencia.

La figura 72 ilustra la coherencia wavelet de la respuesta de la vibrisa al estímulo. Al igual que antes, debido a que la estimulación es periódica (a 1 Hz) nos centramos en la respuesta concerniente a la banda de frecuencia o periodo del estímulo, en este caso en el rango [0.83, 1.16] Hz o [0.8, 1.2] s, respectivamente. Durante la estimulación control (Fig. 72A) la respuesta de la neurona es altamente coherente con el tren del estímulo, lo que evidencia la presencia de una asociación estímulo – respuesta neuronal que ya intuíamos en el PSTH (Fig. 70A) y en el espectro de potencias (Fig. 71B). Observamos que en este caso el acoplo funcional entre la neurona y el estímulo es muy alto y constante a lo largo de la estimulación.

La aplicación simultánea de un estímulo de distracción ipsi (Fig. 72B) o contralateral (Fig. 72C) durante la estimulación de la principal vibrisa provoca una disminución en el acoplo entre los eventos de estimulación y la respuesta sensorial de la neurona trigeminal. Notamos además que el efecto de la interferencia sensorial no es constante a lo largo del experimento. El máximo decremento de la coherencia se observa al principio de la aplicación de la interferencia sensorial. Esto sugiere que el estímulo novel atrapa la mayor “atención” del sistema sensorial y por tanto el efecto se manifiesta en una disminución de la coherencia.

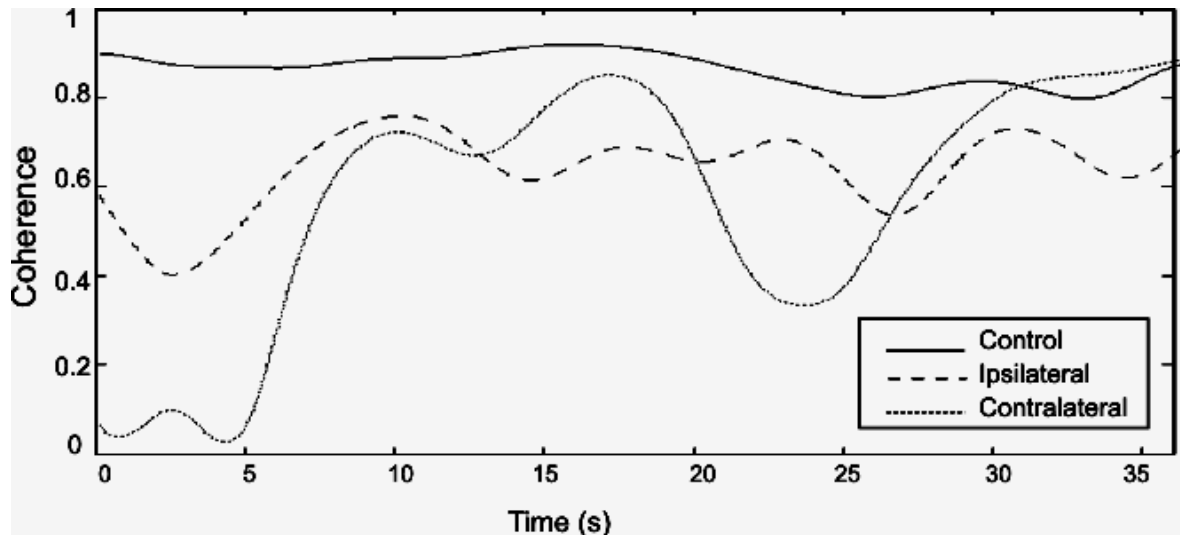


Figura 73: Coherencia wavelet promediada sobre la banda de periodo del estímulo en las épocas control, y durante la distracción ipsi y contralateral.

Para estudiar los cambios en el acoplo de la respuesta neuronal al estímulo promediamos la coherencia local sobre la banda de frecuencia del estímulo. La figura 73 muestra la curva obtenida en control y durante la aplicación del estímulo de distracción ipsi y contralateral. Se observa que el nivel medio de la coherencia respuesta disminuye con la interferencia sensorial y la amplitud de la oscilación de la coherencia aumenta. El decremento de la coherencia es más drástico al principio de la interferencia sensorial contralateral. Sin embargo, tras 10 segundos la coherencia tiende a recuperarse aunque de forma no persistente. En esta figura se puede observar claramente una oscilación lenta durante la interferencia sensorial y el alto acoplo entre la respuesta neuronal y el estímulo en condiciones control.

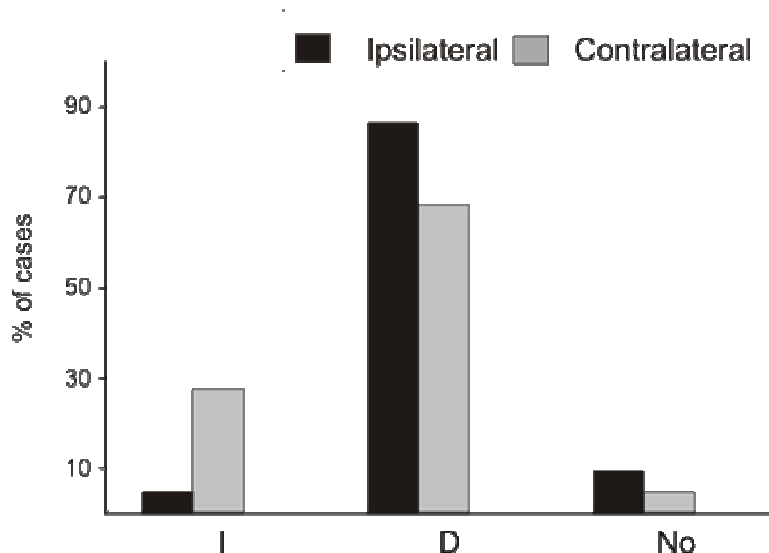


Figura 74: Porcentaje de tipos de efectos I, No y D a la distracción táctil de la coherencia de la respuesta neuronal a las deflexiones de la vibrisa relativas a la estimulación control.

Aplicando este análisis a cada tren de disparo registrado obtenemos los valores característicos de la coherencia promedio respuesta neuronal sobre la población. Al igual que antes describimos los efectos I (incremento), D (decremento) y no-efecto en comparación de la coherencia control y tras la interferencia sensorial. La figura 74 muestra el porcentaje de casos de cada tipo de efecto ante la distracción ipsi y contralateral. La interferencia sensorial ipsilateral disminuye la coherencia en un 86% de los casos, mientras que la contralateral en un 70%. En pocos casos (un 10% para la distracción ipsilateral y un 3% en la contralateral) la interferencia sensorial no provoca ningún efecto sobre la coherencia en control. Finalmente, la coherencia de aumenta en un 27% de los casos durante la interferencia contralateral y un 4% durante la interferencia sensorial ipsilateral. Ante la estimulación de distracción ipsilateral el porcentaje de casos en los que la coherencia disminuye es mayor que ante la distracción contralateral, pero en ambos casos la distracción produce una disminución de la coherencia respecto a la estimulación control. Los resultados sugieren la existencia de un “filtro de atención” en las primeras etapas del procesamiento sensorial.

DISCUSIÓN

7. Discusión

Evaluación de los métodos matemáticos para inferir en la conectividad funcional a partir de trenes de disparo

El estudio de los trenes de disparo es de central importancia en electrofisiología. Habitualmente se estudian los cambios en la tasa media de disparo. Una extensión natural al cálculo de la tasa de disparo es estimar las funciones de autocorrelación y correlación-cruzada. Sin embargo es cada vez mayor el interés en caracterizar la estructural temporal de los trenes de disparo y sus relaciones de forma más completa (Gray *et al.*, 1989; Gerstein *et al.*, 1985; Abeles *et al.*, 1983).

El objetivo de la sección 6.1 ha sido estudiar los métodos matemáticos propuestos para determinar el patrón de conectividad funcional de una red neuronal a partir de las series temporales que caracterizan su actividad de disparo, los trenes de disparo. Dicho trabajo está enmarcado en un proyecto cuyo ánimo es el análisis de datos experimentales y la identificación de circuitos funcionales compuestos por neuronas, donde los métodos que hemos presentado y estudiado aquí proporcionan las herramientas matemáticas para obtener información sobre el comportamiento y la organización de estructuras neuronales basándonos en dichos registros.

La Correlación Cruzada (CC) es una herramienta extensamente empleada en neurociencia, sin embargo son varios los autores que han resaltado sus limitaciones y han alertado sobre la validez de las conclusiones que se derivan de ella (entre otros, Aerten *et al.*, 1986; Brody., 1999). Por ejemplo, no podemos concluir si la conexión es directa o mediada por una o varias neuronas intermedias o por una entrada común. La correlación podría mostrar interacción entre dos neuronas no acopladas (*falso positivo*). Consideramos el caso de dos neuronas independientes con la misma tasa de disparo, la CC mostraría un pico a una frecuencia dada. Por otro lado la correlación entre el tren de disparo de una neurona arrítmica y otra rítmica mostraría oscilaciones caracterizadas por el ritmo de la segunda. Brody (1999) mostró que la correlación no puede discernir entre picos debidos a la sincronía

y la latencia de respuesta al estímulo o la excitabilidad neuronal. En este trabajo hemos presentado ejemplos y topologías en las que hemos podido ver algunas de las limitaciones de CC; la dificultad para detectar la presencia de conexión inhibitoria (Aertsen *et al.*, 1985; Palm *et al.*, 1988), la fuerza de acoplo o la indistinguibilidad entre conexión directa e indirecta en los casos de alto acoplamiento. La CC contiene información relativa no sólo a los efectos inmediatos de la señal de entrada (tren de disparo de la neurona pre-sináptica) sobre la salida (neurona post-sináptica) sino también relativa a la dinámica de cada una de las neuronas (Popele *et al.*, 1998). Para restar ambigüedad a la interpretación, debemos tener en cuenta también las auto-correlaciones de cada neurona. Trabajos originales (Knox, 1977) demostraron que parámetros relativos a la dinámica neuronal influyen en la detección de la correlación entre neuronas, ya que la CC depende de la distribución del potencial de membrana y de cómo se altera ante la presencia de entradas. Por las dificultades en la interpretación que conlleva CC, el método puede servir como paso preliminar para detectar el patrón de conectividad funcional en redes neuronales.

Los métodos desarrollados en el dominio de frecuencia, como la coherencia espectral (SC), coherencia espectral parcial (PSC), y los métodos basados en la causalidad de Granger, como la función de transferencia dirigida (DTF), la coherencia dirigida parcial (PDC) o la función de transferencia dirigida directa (dDTF) nos aportan además de la conectividad el conocimiento sobre las frecuencias a las que interactúan las neuronas. El dominio de frecuencias ofrece varias ventajas frente al dominio de tiempo. Primero, los métodos en el dominio de frecuencia captan mejor las sutilezas de la estructura del patrón de disparo, que a veces resulta de gran dificultad en el dominio de tiempo. Segundo, las medidas en el dominio de tiempo son más sensibles al comportamiento no estacionario débil (Brody, 1998). Tercero, las medidas en el dominio de tiempo no dependen de la selección de un bin. Y cuarto, la coherencia y otros métodos similares son medidas normalizadas de la correlación entre dos series temporales, en contraste con la correlación cruzada en el dominio de tiempo que no está normalizada.

La SC y PSC tienen un buen rendimiento, sin embargo la información que proporciona sobre la estructura funcional de la red es bastante limitada.

PSC es un método robusto para distinguir entre conexión directa e indirecta. Sin embargo, en casos límite de trenes prácticamente aleatorios o muy rítmicos el rendimiento del método disminuye. PSC tiene tres claras limitaciones: no proporciona conocimiento acerca del tipo de sinapsis; No detecta bucles; y la dirección de la sinapsis no es fácilmente extraíble. A pesar de ellos, nuestros resultados sugieren que PSC es un método “de primera elección” debido a su simplicidad y bajo nivel de error.

Los métodos basados en la causalidad de Granger ofrecen mayor información de la red (por ejemplo la dirección de la sinapsis) pero su porcentaje de error (eficacia) es mayor que los de PSC. Nuestra evaluación concluye que DTF y PDC son buenos métodos para detectar correctamente la dirección de la interacción pero tienen un menor rendimiento al distinguir entre conexión directa e indirecta. Dichos métodos presentan dos limitaciones: problemas al distinguir conexión directa de indirecta, y no proporcionan conocimiento acerca del tipo de la sinapsis. Se ha propuesto dDTF como método capaz de combinar las ventajas de PSC para distinguir la conexión directa y la indirecta y DTF para poder concluir sobre la dirección de la sinapsis.

Los métodos en el dominio de frecuencia tienen como punto de partida la estimación del espectro de potencias de la señal (transformada de Fourier), y es en este punto donde surge la gran diferencia entre la aplicación de los métodos a procesos puntuales o a series temporales continuas. La evaluación del rendimiento de los métodos ha sido publicada en la literatura únicamente para series temporales continuas, probándose su utilidad en este campo. Las aplicaciones de los métodos a procesos puntuales son escasas y se limitan casi exclusivamente a datos simulados. Nuestro objetivo ha sido la evaluación del rendimiento de los métodos en su aplicación a trenes de disparos, lo que nos ha llevado a descartarlos como herramienta para inferir en el patrón de conectividad a partir de trenes de disparo debido a la dificultad que conlleva el tratamiento previo de este tipo de datos y la baja fiabilidad de los resultados.

Eliminación de artefactos en el EEG y determinación y discriminación de circuitos cortico-corticales

Apoyándonos en los métodos matemáticos desarrollados en el dominio de frecuencia, cuya utilidad para series temporales continuas como el EEG ha sido extensamente probada, nos hemos centrado en la determinación de circuitos a gran escala, circuitos cortico-corticales. Para ellos un primer paso obligatorio es la eliminación de los artefactos en el EEG.

Recientemente se han realizado grandes esfuerzos en la supresión de artefactos en los registros de EEG, y se ha mostrado la gran utilidad del análisis de componentes independientes (ICA) en la descomposición de la señal. Sin embargo son varios los autores que aconsejan tratar este análisis con precaución (véase la revisión de Stone, 2002). Los estudios publicados sobre la evaluación del rendimiento de ICA en la supresión de artefactos se han centrado casi exclusivamente en la importante reducción del espectro en la banda correspondiente a los artefactos típicos en un EEG corregido por ICA (Tong *et al.*, 2001; Tran *et al.*, 2004). Sin embargo, la distorsión de la parte cerebral del EEG que introduce el método ha sido una cuestión que aunque discutida se ha dejado sin tratar. Algunos estudios han apuntado a una posible distorsión de la actividad cerebral debido al procedimiento de corrección de ICA (Wallstrom *et al.*, 2004; Kierkels *et al.*, 2006) pero la cuantificación de la distorsión sobre las características no locales (por ejemplo la coherencia espectral) ha sido hasta la fecha completamente no estudiada. En la sección 6.2 nos hemos propuesto dos objetivos complementarios: (1) estudiar cuantitativamente cómo la supresión de artefactos en el EEG distorsiona la actividad cerebral subyacente y afecta la calidad de las características derivadas locales (espectro) y no locales (coherencia); y (2) proponemos un nuevo método que mejora el rendimiento de la técnica convencional ICA, que reduce la distorsión en el EEG al suprimir los artefactos.

Primero, hemos mostrado que el EEG corregido por ICA podría perder parcialmente la actividad cerebral. De hecho, ICA descompone el EEG en sus componentes de origen artificial y neuronal y rechaza las primeras. Tal separación es válida para fuentes independientes, linealmente mezcladas donde el número total no excede el número de electrodos de registro (Bell y Sejnowski, 1995). En la práctica estas suposiciones pueden violarse lo que

conllevaría una filtración de actividad cerebral en las componentes asociadas como artificiales. El rechazo completo de tales componentes supone por tanto una pérdida parcial de la señal neuronal. Para reducir las distorsiones en el EEG corregido hemos propuesto un método de mejora de ICA que se apoya en las posibilidades que ofrece wavelet, que hemos denominado wICA, y que permite recuperar la actividad cerebral que se filtra en las componentes artificiales. wICA está basado en la descomposición de la señal ICA e incluye como paso intermedio un procedimiento de umbral sobre las componentes independientes. Este paso recupera la actividad neuronal persistente, de baja amplitud y ancho espectro, que se haya filtrado en las componentes identificadas como responsables del artefacto. Por tanto, la anulación de tal componente conlleva únicamente la supresión de la parte artificial dejando inalterada la actividad neuronal en el EEG corregido por wICA. Notamos que wICA no sólo recupera la actividad cerebral fuera de los episodios de artefacto sino que también permite una sustancial recuperación de la señal neuronal bajo el artefacto. Otra ventaja de wICA es la posibilidad que ofrece de automatizar el proceso. No se requiere una laboriosa y a veces ambigua inspección visual de las componentes independientes. Todas las componentes se pasan por el procedimiento de umbral de forma que sólo a las componentes que contienen artefactos (con una determinada morfología y de alta magnitud) se les aplica la transformada wavelet. En este punto recalcamos que el uso propuesto del análisis wavelet no se realiza sobre el EEG crudo sino sobre las componentes independientes lo que supone una gran ventaja ya que los artefactos se centran en unas pocas componentes, donde la relación entre la magnitud del artefacto y la magnitud de la actividad cerebral es mucho mayor que en la señal registrada por los electrodos afectados por el artefacto. Esto mejora fuertemente la calidad en la detección del artefacto y simplifica la aplicación del método ya que no se requiere una selección fina del valor de umbral.

Segundo, hemos cuantificado el rendimiento de ICA y wICA como métodos de supresión de artefactos en los dominios de tiempo y frecuencia usando EEG reales y semi-simulados. Notamos que la cuantificación de la calidad de recuperación de la señal se refiere al control, épocas de EEG libres de artefacto. En el dominio de tiempo mostramos que ICA elimina (en 19.4 dB) la presencia de artefactos oculares y reduce moderadamente los artefactos de

pulso cardiaco (en 3.5 dB). wICA ofrece una mejora significativa reduciendo en 35.0 y 13.7 dB la presencia de artefactos oculares y de pulso cardiaco, respectivamente. En el dominio de frecuencia, mostramos que ICA tiende a infraestimar el espectro de potencias del EEG en todas las bandas de frecuencia. Hemos estimado teóricamente la pérdida en el espectro de potencias y mostramos que es el producto de la actividad neuronal persistente y el peso correspondiente de la matriz de combinación. Esto supone por ejemplo que la pérdida espectral en la supresión de los artefactos oculares es mayor en las posiciones frontales. Calculando el valor absoluto de la distorsión espectral en el electrodo FP1 encontramos que para ICA/wICA: 4.4/0.7, 3.8/0.2, 4.3/0.1 y 4.8/0.1 dB en las bandas Theta, Alpha, Beta y Gamma, respectivamente.

El EEG proporciona una base natural para el estudio de la dinámica cerebral no local y los circuitos corticales. Por primera vez, hemos abarcado la cuestión de cómo la supresión de artefactos afecta la evaluación de las características no locales más simples, es decir la coherencia espectral directa y parcial. Nuestros resultados sugieren que los EEGs corregidos por ICA podrían exhibir un nivel de coherencia sobre-estimado mientras que wICA supera este problema presentando niveles de coherencia próximos a los encontrados en condiciones control. La sobre-estimación podría llevar a conclusiones erróneas sobre la presencia de acoplo (asociación) espurio entre las correspondientes áreas corticales. De hecho, hemos mostrado que el patrón de conectividad funcional que proporciona la coherencia espectral parcial evaluado sobre EEG corregidos por ICA es mucho más denso que el de condiciones control. wICA solventa este problema mostrando prácticamente el mismo patrón de conectividad que en condiciones control.

Una vez hemos establecido un procedimiento fiable de eliminación de artefactos podemos volver al objetivo original de determinar el circuito cortico-cortical. Para ello hemos empleado los métodos PSC y dDTF estableciendo una primera comparación entre ellos para el caso de un sujeto control en los estados de ojos abiertos y cerrados. Aplicamos el método dDTF para determinar los circuitos a gran escala para las poblaciones de sujetos control y una población de pacientes con diverso daño cerebral. Hemos podido comprobar,

aplicando el análisis discriminante lineal (LDA), que los circuitos cortico-corticales son una medida que define y caracteriza cada población. Gracias a las posibilidades que ofrece LDA los resultados muestran que las bandas de frecuencia que mejor discriminan tales poblaciones son las bandas Theta (4-8 Hz) y Beta (13-30 Hz). Además proponemos que las parejas de electrodos que marcan las diferencias entre los circuitos de una población control y una población con daño cerebral son las correspondientes a los pares de electrodos (Pz, P4), (T6, P4), (P3, T5) y (C4, P4), cuya dirección de acoplamiento es proporcionada por el método dDTF.

Interacción entre las áreas visuales de los dos hemisferios cerebrales dependiente del estímulo

Consideraciones metodológicas

Las interacciones entre las áreas visuales de los dos hemisferios han sido estudiadas a nivel de neuronas individuales y señales EEG y fMRI. En este trabajo hemos elegido analizar interacciones interhemisféricas registrando LFPs ya que representa el paso intermedio entre el nivel neuronal y el macroscópico. Los LFPs proporcionan el nivel “mesoscópico” de la resolución espacial. Además como los LFPs reflejan la depolarización de las membranas neuronales, no es necesario alcanzar el umbral de disparo, son más sensibles que un registro individual y son directamente comparables con los resultados obtenidos con imagen óptica lenta y rápida (Schmidt *et al.*, 2005; Nakamura *et al.*, 2007).

La inactivación de la corteza visual por congelación fue propuesta por Payne y colaboradores (Payne *et al.*, 1991) en estudios de interacciones interhemisféricas similares a las de este trabajo y posteriormente extendidas a estudios de comportamiento (Galuske *et al.*, 2002). Comparado con la transección callosa, la inactivación de las áreas visuales como vía para evaluar el papel de las interacciones interhemisféricas tiene las siguientes ventajas. Es menos invasiva quirúrgicamente, y esto, particularmente en animales pequeños como el hurón, evita daños en los hemisferios. Los efectos de la inactivación son reversibles lo que permite estudiar las respuestas antes y después de la inactivación del otro hemisferio, eliminando así los efectos confusos de tendencias naturales o espontáneas. Finalmente, las áreas individuales pueden

congelarse separadamente y esto permite diseccionar el papel de las diferentes vías inter-hemisféricas. Aunque la congelación no interrumpe las fibras callosas, la anatomía de las vías visuales deja poca duda sobre si la congelación de un hemisferio marca la influencia de su proyección callosa a otro hemisferio. Finalmente, el hecho de que la congelación afecte selectivamente a las respuestas a las barras y no a los pulsos de luz cuadrados, como se concluye de nuestros resultados, previene de efectos inespecíficos, y concuerda con estudios previos (Payne *et al.*, 1991; Lomber *et al.*, 1994, 1996, 1999). En particular elimina la posibilidad de que la congelación pudiese haber afectado directamente al hemisferio donde se realizan los registros.

Modelo de interacción inter-hemisférica en las áreas visuales

Destacamos cuatro resultados de la sección 6.3 de este trabajo. Primero, la señal de entrada del hemisferio contralateral parece no ser relevante a la localización, tamaño y forma del campo receptivo periférico (PRF) cartografiado mediante estímulos de pulsos de luz de corta duración cerca de la línea media del campo visual. Además no modifica la fuerza de la respuesta a tal estímulo. El hecho de que las respuestas a las barras si dependan de la señal de entrada desde el hemisferio contralateral supone una primera indicación de que las interacciones inter-hemisféricas en las áreas visuales primarias son específicas al estímulo. Segundo, consistentemente con el trabajo de Payne y colaboradores (Payne *et al.*, 1991) eliminar la señal de entrada del hemisferio contralateral no suprime las respuestas al estímulo visual, sino que las modifica de forma compleja. Es decir, las señales de entrada callosas per se, al menos en las áreas visuales primarias, cooperan principalmente con las entradas tálamo-corticales que modifica. Esto podría ser un principio común de la función callosa, al menos en las áreas sensoriales primarias ya que esto también se aplica a las áreas somatosensoriales del gato, humanos y roedores (Innocenti *et al.*, 1973; Fabri *et al.*, 2006; Li y Ebner, 2006). Este papel modulador de las conexiones callosas es consistente con la morfología de los axones callosos según lo estudiado en gato (Tetón *et al.*, 1998) y con el modesto tamaño de la mayoría de los EPSPs provocados por estímulos transcallosos en las áreas visuales, somatosensoriales y de asociación del gato

(Innocenti *et al.*, 1972; Toyama *et al.*, 1974; Cissé *et al.*, 2003). Tercero, las respuestas LFP provocadas por las barras dependen de la entrada desde las correspondientes áreas de los hemisferios contralaterales y los efectos son dependientes del estímulo. Son llamativos los diferentes efectos sobre la fase dinámica de los estímulos S2 y S3. El 63% de las respuestas a S2 se incrementaron después de la congelación y el 37% disminuyó, mientras que con el estímulo S3 el 38% de las respuestas se incrementó y el 62% disminuyó. Los diferentes resultados obtenidos con los estímulos dinámicos S2 y S3 tienen una explicación plausible. El incremento de las respuestas con la congelación a las barras S2 podría deberse a un efecto predominante de liberación desde los inhibidores iso-orientados guiados callosamente (Ferster, 1986; Kisvárdy *et al.*, 1994; Monier *et al.*, 2003). De hecho, el decrecimiento con las barras S3 podría deberse al hecho de que el estímulo S3 activa diferentes conjuntos de neuronas específicas a la orientación y/o dirección vía rutas tálamo-corticales y vía rutas callosas. La congelación elimina esta última, y por tanto reduce sus respuestas. El cuarto resultado de este capítulo es que mientras las entradas excitadoras e inhibitoras de las áreas visuales contralaterales pueden ser inferidas por los efectos de la congelación, el efecto inhibitorio predomina a cortas latencias (25-50 ms) después del inicio del estímulo, mientras que el efecto excitador predomina a largas latencias (> 50 ms). Las latencias de ambos efectos son compatibles con las conducciones callosas.

En el trabajo de Ramachandra (Ramachandra *et al.*, 1986) se utilizaban estímulos pequeños (20 min de arco) de corta duración (130 ms) en una sucesión en y a través de los hemicampos en sujetos normales y aquellos con el cerebro dividido ("split-brain"). Ambas poblaciones percibían un movimiento aparente en y entre los hemicampos lo que sugirió que el mecanismo responsable de la percepción del movimiento aparente no se veía alterado por la "callostomía". El papel que desempeña cada área visual en la detección del movimiento aparente no está todavía claro, el estímulo usado en los experimentos de Ramachandra es muy similar al estímulo S1 de este trabajo. Los resultados del grupo de Ramachandra, posteriormente confirmados por Corballis (1995), parecen estar en línea con los hallados en este trabajo, la respuesta a estos estímulos no requieren de la interacción entre las áreas visuales de los dos hemisferios.

El presente trabajo revela tres modos de interacción mediada por el cuerpo calloso en las áreas visuales primarias. Estas modalidades son específicas para cada estímulo y, en particular, dependen de si los dos hemisferios procesan estímulos idénticos y coherentes o diferentes. La interacción entre los hemisferios: i) modula la amplitud de las respuestas a estímulos visuales de forma compleja, ii) modifica la sincronización de las respuestas de los dos hemisferios (Engel *et al.*, 1991; Kiper *et al.*, 1999; Knyazeva *et al.*, 2006; Munk *et al.*, 1995; Rose *et al.*, 2006); iii) modulan la formación de redes neuronales sincronizadas guiadas por el estímulo en cada hemisferio (Carmeli *et al.*, 2007). Debido a que esas interacciones son específicas al estímulo, pueden contribuir a la detección y/o categorización del estímulo. Esto podría realizarse incrementando la relación señal-ruido a un cierto estímulo, en particular a estímulos idénticos en los dos hemicampos.

Finalmente, debe mencionarse que los resultados presentados en este capítulo sugieren que en las áreas visuales primarias las conexiones callosas no conducen independientemente las respuestas corticales si no que modulan las entradas predominantes tálamo-corticales.

Conectividad espectro-temporal a partir de trenes de disparo.

Modulación corticofugal de la coherencia de la respuesta a estímulos táctiles en las neuronas de proyección del núcleo gracil

Aunque las neuronas pueden comunicarse usando la tasa de disparo promediada (Shadle y Newsome, 1988), en el sistema nervioso central son cada vez más frecuentes las observaciones de tiempos de disparo precisos y reproducibles, lo que incrementa la probabilidad de que el patrón de disparo provocado por el estímulo codifique información sensorial (Abeles *et al.*, 1993; Mainen y Sejnowski 1995; Bair y Koch 1996). Esta última posibilidad se manifestaría en el sistema somatosensorial como un patrón de respuesta repetido de las neuronas de proyección del gracil coherente con los eventos de estimulación. Por tanto, sus descargas sincronizadas por el estímulo inducirán un EPSP en una ventana temporal estrecha en las células talámicas,

incrementando la probabilidad de generar un disparo que posteriormente será transmitido a la corteza somatosensorial primaria (SI) (Nicolelis *et al.*, 1995; Steinmetz *et al.*, 2000). Por esta razón estudiamos la coherencia de la respuesta al estímulo en el núcleo gracil y su evolución temporal sobre épocas de estimulación. Este análisis ha revelado que el aumento de la coherencia podría ser más relevante en el procesamiento sensorial que un incremento en el número de disparos provocado por el estímulo. Por otro lado, la retroalimentación corticofugal que proyecta desde la corteza SI al núcleo gracil cierra el bucle en el procesamiento de la información sensorial. Nos hacemos eco de la hipótesis de que las oscilaciones en la corteza SI podrían facilitar una asociación funcional entre células funcionalmente relacionadas (Murthy y Fetz 1992, 1996; Roy y Alloway 1999). Esta “hipótesis de asociación” podría aplicarse también al núcleo gracil. De hecho, la señal de entrada sensorial podría ser integrada por redes neuronales oscilantes compuestas de neuronas del gracil espacialmente distribuidas, pero que comparten un campo receptivo común. Su actividad podría estar modulada y acentuada a través de la retroalimentación corticofugal de la corteza SI. De esta forma, la sincronización rítmica podría incrementar el contraste entre los EPSPs provocados por las neuronas entrenadas rítmicamente y las salidas sinápticas de neuronas no coherentes.

En el sistema somatosensorial ya había sido descrito previamente un efecto de facilitación selectivo de la retroalimentación corticofugal (Malmierca y Nuñez 1998, 2004; Canedo y Aguilar 2000) y en otras vías sensoriales (ver por ejemplo, Sillito *et al.*, 1994; Yan y Suga 1996; Jen *et al.*, 2002). Este efecto facilitador se debe a la activación de los receptores de NMDA en las neuronas del gracil (Nuñez y Buño, 2001; Malmierca y Nuñez 2004). La retroalimentación cortical selectiva, acuñada como “selección egocéntrica” por Jen *et al.*, (2002), podría jugar un papel crucial en la entrada de la información sensorial que alcanza el tálamo y después la corteza. Para validar y desarrollar la hipótesis de asociación hemos estudiado la modulación de la coherencia del estímulo táctil en las neuronas del gracil después de estimular eléctricamente la corteza SI. Nuestros resultados muestran que la activación de la vía corticofugal incrementa la actividad rítmica sincronizada con el estímulo sensorial en el mayoría de los casos (alrededor de un 60%).

Los resultados obtenidos han sido posibles gracias al uso de la coherencia wavelet para el análisis de trenes de disparos. Aunque podría obtenerse una descripción aproximada del bucle somatosensorial basándose en el PSTH, el creciente campo de la dinámica no lineal y la teoría de sistemas complejos proporcionan un nuevo enfoque para comprender los complejos procesos biológicos que subyacen (Pavlov *et al.*, 2006). En este sentido hemos demostrado que el contexto wavelet para análisis de señales no estacionarias puede adaptarse a la investigación de trenes de disparo y puede usarse para cuantificar el acoplamiento funcional entre la respuesta neuronal y el estímulo. El acoplamiento entre dos señales (es decir, los eventos de estimulación y la respuesta neuronal) pueden detectarse mediante la coherencia espectral. Sin embargo, el cálculo de la transformada de Fourier representa el origen del problema por el que la coherencia no sea aplicada a trenes de disparo en la práctica. La coherencia wavelet es más apropiada y puede aplicarse directamente a trenes de disparo. Además de proporcionar la estructura temporal de la relación funcional de forma evaluable la transformada wavelet se ajusta bien a los procesos puntuales (trenes de disparo). Para un uso óptimo de la coherencia wavelet es aconsejable: i) ajustar el parámetro Morlet de acuerdo al problema, y ii) testar la coherencia significativa. Para una frecuencia de estimulación constante (1 Hz, en nuestro caso) hemos encontrado que el parámetro $k_0 = 2$ permite resolver bien el ritmo de disparo inducido por el estímulo. La coherencia significativa se refiere a la creencia (estadística) de en qué grado las coincidencias aleatorias son responsables de un valor determinado de la coherencia. Esto puede testarse usando simulaciones Monte-Carlo con trenes de disparo barajados obtenidos al permutar sus intervalos entre espigas.

Respecto al análisis del espectro de potencias hemos demostrado que el patrón de disparo espontáneo (cuando existe) de las neuronas de proyección del núcleo gracil es esencialmente aleatorio y no se ve afectado por la estimulación eléctrica de la corteza SI. Esto supone que la estimulación corticofugal no incrementa la excitabilidad neuronal, sino que facilita específicamente las respuestas sensoriales sinápticas. La estimulación táctil del campo receptivo de la neurona incrementa fuertemente el espectro de

potencias en la banda correspondiente a la frecuencia de estimulación, como esperábamos. Nuestros resultados muestran también un incremento de la potencia en la banda de frecuencia alpha (5-15 Hz), en concordancia con resultados anteriores (Panetsos *et al.*, 1998; Nuñez *et al.*, 2000). Aunque a nivel neuronal solo hemos encontrado cambios en las bandas de frecuencia alpha y la del estímulo otras bandas de frecuencia (por ejemplo gamma) podrían estar presentes a nivel de la población neuronal (redes pequeñas). Posteriormente hemos demostrado que la estimulación eléctrica de la corteza SI incrementa la potencia para el 66% y 69% de las neuronas de proyección en las bandas de frecuencia del estímulo y alpha, respectivamente. Sin embargo, el incremento medio no es significativo. Esto argumenta que la facilitación observada de la respuesta neuronal por la vía corticofugal no es extensiva sino que, al menos en parte, podría estar mediada a través de una apropiada ordenación del patrón de disparo provocado por el estímulo en el núcleo gracil. Para verificar esta hipótesis abarcamos la cuestión de cómo de coherente es la respuesta neuronal al estímulo táctil. Aunque el espectro de potencias del tren de disparo en la banda de frecuencia del estímulo puede ser incluso mayor, esto no supone una mayor coherencia de la respuesta neuronal a la estimulación táctil. El nivel de coherencia depende fuertemente de la “reproducibilidad” del patrón de disparo generado por el estímulo, mientras que debido a la normalización, la potencia de la señal en una banda de frecuencia es menos importante.

Además hemos encontrado que la correlación entre el incremento de la tasa de disparo y la coherencia no es significativa, pero mostramos que hay una correlación positiva en los cambios provocados por la estimulación eléctrica de la corteza SI en la coherencia y la amplitud del pico de respuesta al estímulo que se muestra en el PSTH. Sin embargo, notamos que un aumento (o disminución) de la coherencia al estímulo no está siempre acompañada por un incremento (o decremento) en la amplitud del PSTH. Esto supone que la amplitud del pico no es una medida aconsejable para evaluar la coherencia de la respuesta neuronal al estímulo táctil.

Hemos mostrado que se observa un incremento en la coherencia al estímulo provocado por la estimulación eléctrica de la corteza SI en el 59% de

las neuronas de proyección del gracil con campos receptivos coincidentes (que es el 7% más bajo que el incremento de la potencia), mientras que en el 17% observamos una disminución de la coherencia de la respuesta al estímulo. Este efecto podría deberse a la activación simultánea de fibras corticales desde los campos receptivos coincidentes y no coincidentes. Esto sugiere que la sincronización selectiva de las descargas guiadas por el estímulo podría mejorar el contraste entre las señales de entrada sinápticas desde el campo receptivo y otras entradas sinápticas. Por tanto, la corteza SI podría contribuir a una fina focalización de las respuestas sensoriales en las neuronas del gracil, mejorando la actividad de neuronas relacionadas funcionalmente y filtrando aquellas entradas sensoriales irrelevantes desde la periferia.

La posibilidad de estudiar la estructura temporal de la coherencia de la respuesta neuronal al estímulo nos permite describir las fluctuaciones ultra lentas en la respuesta a estímulo táctiles de las neuronas de proyección. Notamos que tal oscilación no puede observarse directamente a partir del espectro de Fourier ni del PSTH de la respuesta neuronal, sin embargo si lo permite la coherencia wavelet. Dichas fluctuaciones representan una modulación lenta de la coherencia (o reproducibilidad) de la respuesta neuronal a la estimulación táctil sobre una larga escala de tiempo; es decir, la neurona dispara esencialmente un número diferente de disparos con diferente intervalo entre espigas a los mismos eventos de estimulación a lo largo de la época de estimulación. Además de la observación de la facilitación en el acoplo funcional estímulo táctil – respuesta neuronal tras la estimulación eléctrica de la corteza SI, proporcionamos una evidencia de que el acoplamiento funcional entre el estímulo sensorial y la respuesta neuronal oscila lentamente en el tiempo. A lo largo de la esta oscilación, la coherencia al estímulo puede caer por debajo del nivel de significación temporalmente. Esto supone que la asociación funcional entre la respuesta de una neurona y el estímulo podría perderse temporalmente. Este fenómeno apoya la idea de que el procesamiento de la información en el núcleo gracil ocurre a nivel de la red neuronal, lo que podría ser “energéticamente” beneficioso para el sistema. La frecuencia media de la oscilación observada en la coherencia es de alrededor de 0.07 Hz. Se han demostrado oscilaciones en la misma banda de frecuencia, entre 0.02 y 2 Hz,

en estudios de EEG humanos (Vanhatalo *et al.*, 2004). Los autores muestran que las oscilaciones ultra lentas a gran escala en regiones corticales extendidas podrían representar una modulación cíclica de la excitabilidad cortical. Esta oscilación ultra lenta de la actividad cortical podría transferirse al núcleo gracil a través de la proyección corticofugal, modulando las respuestas táctiles.

Modulación corticofugal de las respuestas a estímulos táctiles de las neuronas del núcleo trigeminal espinal

La corteza somatosensorial podría realzar estímulos relevantes, como ocurre en los núcleos de la columna dorsal (núcleo gracil que acabamos de citar) (Malmierca y Nuñez, 1998, 2004) o podría disminuir las respuestas en el núcleo trigémino cuando se presenta un estímulo nuevo y con carácter de distracción (interferencia sensorial). Este efecto provocado por un estímulo de distracción que se aplica fuera del campo receptivo de la neurona registrada se observa cuando dicho estímulo se aplica en el lado opuesto de la cara. De esta forma, los datos sugieren la existencia de un filtro de “atención” ya en las primeras estaciones del procesamiento sensorial. Para evaluar esta modulación compleja de las respuestas sensoriales hemos empleado como en el caso anterior el contexto de la coherencia wavelet, herramienta capaz de revelar los cambios dinámicos en las interacciones sinápticas en una red neuronal.

El análisis del espectro de potencias wavelet muestra, como esperábamos, que la estimulación táctil de la neurona provoca un gran incremento de la potencia espectral en la banda de frecuencia del estímulo. Además hemos demostrado que la coherencia de la respuesta neuronal al estímulo disminuye en un 86% para distracción ipsilateral y un 70% para contralateral respecto a la coherencia medida durante la estimulación control. Además, el análisis mostró que la coherencia decae más inmediatamente después de aplicar el estímulo de distracción y posteriormente se recupera pero no llega a alcanzar los niveles control. De acuerdo a los resultados previos sobre la plasticidad sináptica, la disminución de la coherencia tiene una importante implicación ya que supone un decremento de la correlación temporal entre los eventos de estimulación táctil y el tren de disparos provocado. Este decrecimiento puede interpretarse como una interferencia

sensorial, como se describió anteriormente para la corteza SI (Alenda y Nuñez, 2004, 2007). Además se ha observado en la corteza de roedores que la deflexión de la vibrisa ipsilateral suprime las respuestas corticales provocadas por la estimulación de la vibrisa contralateral (Shuler *et al.*, 2001). Estos datos son consistentes con el modelo donde la actividad sensorial provocada por las vibrisas ipsilaterales inhibe las respuestas corticales a la estimulación de su campo receptivo, que está localizado en la vibrisa contralateral. De acuerdo con esto, la ausencia de vibrisas ipsilaterales en la corteza somatosensorial incrementa el campo receptivo de las vibrisas contralaterales (Glazewski *et al.*, 2007). La interferencia sensorial se manifiesta como un decremento en el número de disparos provocados por la deflexión de una vibrisa así como un cambio en la correlación temporal entre el inicio del estímulo y el tren de disparo provocado (coherencia). Ambos eventos son cruciales en la transmisión sensorial ya que las descargas sincronizadas mediante el estímulo inducirán EPSPs en una ventana temporal estrecha en las células talámicas, incrementando la probabilidad de generar disparos que posteriormente serán transmitidos a la corteza.

La interferencia sensorial provocada por un estímulo de distracción ipsilateral podría ser debida a la interacción sináptica dentro del núcleo trigeminal. Sin embargo, el hecho de que un estímulo de distracción contralateral también induzca interferencia sensorial en las neuronas del SP5c, sugiere fuertemente que este efecto está mediado por proyecciones corticofugales desde la corteza somatosensorial ya que no hay proyecciones entre el núcleo trigémino o talámico de cada lado (Killackey, 1973).

Nuestros resultados pueden interpretarse consistentemente bajo la suposición de que las neuronas corticales somatosensoriales reciben información desde sus campos receptivos contralaterales y también desde otros campos receptivos localizados en el lado contra o ipsilateral del cuerpo. Proponemos que las conexiones interhemisféricas a través del cuerpo calloso pueden considerarse como una fuente de esas señales de entrada sensoriales. Las proyecciones callosas en la corteza somatosensorial son homotópicas (Olavaria *et al.*, 1984) aunque otros estudios han indicado que hay pocas conexiones directas entre campos de barriles (Armstrong-James y George,

1988) y que las proyecciones callosas desde los campos barriles pueden estar altamente distribuidas sobre varias áreas corticales contralaterales, incluyendo SII y la corteza motora (Welker *et al.*, 1988).

Consecuentemente, los datos sugieren la existencia de un procesamiento sensorial complejo en la corteza somatosensorial que modula las respuestas sensoriales en estaciones de relevo subcorticales ante a la aparición de un estímulo sensorial novedoso. Resumiendo, la retroalimentación cortical realza estímulos relevantes corticalmente mientras que apacigua otros estímulos sensoriales. Este efecto ha sido acuñado como “selección egocéntrica” (Jen *et al.*, 2002), fenómeno que ya hemos mencionado en el caso del núcleo gracil. Nuestros resultados muestran que un estímulo de distracción podría reducir las respuestas sensoriales en las neuronas trigeminales. Por estas razones, se sugiere que el sistema de retroalimentación corticofugal desempeña el papel de contribuir a la atención selectiva (Malmierca y Nuñez, 2007). La atención selectiva se define como una función cognitiva que permite focalizar los recursos del procesamiento en los estímulos sensoriales relevantes entre la información del entorno disponible en ese momento dado, mientras que se ignora la información sensorial irrelevante. Diferentes estudios han demostrado que, además de mejorar el procesamiento neuronal para estímulos relevantes atencionalmente, la atención selectiva involucra además la supresión del procesamiento sensorial del estímulo de distracción (Reynolds *et al.*, 1999; Smith *et al.*, 2000). Por tanto, las proyecciones corticofugales actúan como un filtro de atención que ensalza los estímulos relevantes y reduce los irrelevantes de acuerdo al contexto y a la tarea de comportamiento que se esté realizando en ese momento.

CONCLUSIONES

8. Conclusiones

1. Este trabajo pretende abarcar la determinación de la conectividad funcional desde dos enfoques: la naturaleza matemática de las señales neurológicas y las escalas espaciales de los circuitos cerebrales.
2. Hemos evaluado los métodos en el dominio de frecuencias, Coherencia Espectral (SC), Coherencia Espectral Parcial (PSC), Coherencia Dirigida Parcial (PDC), Función de Transferencia Dirigida (DTF) y la Función de Transferencia Dirigida directa (dDTF), en su aplicación a trenes de disparos lo que nos ha llevado a descartarlos como métodos para determinar la conectividad funcional.
3. Estudiamos el campo de la eliminación de artefactos en el EEG y evaluamos uno de los métodos más comunes con dicho fin, basado en el análisis de componentes independientes (ICA). Nuestra evaluación sugiere que dicho método distorsiona las propiedades espectrales y de conectividad de la señal. Proponemos un método basado en ICA en la transformada Wavelet, que respeta la señal y reconstruye una señal libre de artefactos.
4. Determinamos los circuitos cortico-corticales o de gran escala a partir de las señales EEGs registradas en una población de sujetos control y otra de pacientes con daño cerebral. Aplicamos el análisis discriminante lineal (LDA) como herramienta útil para discriminar entre ambas poblaciones y captar los pares de señales EEG acopladas que caracterizan a cada población.
5. Hemos estudiado el papel de la interacción interhemisférica en el procesamiento de la información visual. Hacemos uso del análisis de componentes principales (PCA) para captar las diferencias entre condiciones experimentales. El análisis de los LFP registrados en la corteza visual nos indican que la señal de entrada del hemisferio

contralateral no suprime las respuestas al estímulo visual, sino que las modifica de forma compleja.

6. Descartada la transformada de Fourier como método para estimar el espectro de un tren de disparos y posteriormente la asociación funcional, hacemos uso de la transformada de Wavelet para proponer el uso de la coherencia wavelet. Este método captura la asociación funcional a partir de trenes de disparos correctamente y proporciona la dinámica del acoplamiento.
7. La coherencia wavelet nos ha permitido cuantificar el aumento de la respuesta de las neuronas de proyección del núcleo gracil ante estímulos táctiles después de haberse estimulado eléctricamente la corteza somatosensorial primaria (SI). Las propiedades dinámicas de la coherencia wavelet evidencian las oscilaciones ultra lentas y la intermitencia del acoplamiento entre la neurona y el estímulo.
8. La respuesta de las neuronas del trigémino a estímulos rítmicos aplicados sobre la vibrisa y sus cambios frente a estímulos con carácter de distracción ipsi y contralateral han servido como base para el estudio del papel modulador de la vía corticofugal de la corteza somatosensorial.
9. Para el acoplamiento de sistemas neuronales, el complejo patrón de disparo es más importante que el aumento o disminución del número de espigas.

BIBLIOGRAFÍA

9. Bibliografia

Abeles M. (1982) Role of the cortical neuron: integrator or coincidence detector?. *Israel Journal of Medical Sciences* 18, pp. 83–92.

Abeles M., Vaadia E., Bergman H., Prut Y., Haalman I., and Slovin H. (1993). Dynamics of neuronal interactions in the frontal cortex of behaving monkeys. *Concepts in Neuroscience*, 4, pp. 131–158.

Adey WR., Walter DO., Hendrix CE. (1961). Computer techniques in correlation and spectral analysis of cerebral slow waves during discrimination behaviour. *Experimental Neurology*, 3, pp. 501–524.

Aertsen AM., and Gerstein GL. (1985) Evaluation of neuronal connectivity: sensitivity of cross-correlation. *Brain Research*, 340, pp. 341–54.

Aertsen AM., Gerstein GL., Habib MK., and Palm G. (1989). Dynamics of neuronal firing correlation: modulation of "effective connectivity". *Journal of Neurophysiology*, 61, pp. 900–17.

Aertsen AM. and Preissl H. (1991). Dynamics of activity and connectivity in physiological neuronal networks. In: Schuster, H.G., Editor, 1991. *Non Linear Dynamics and Neuronal Networks*, VCH, New York, pp. 281–302.

Aertsen AM., Vaadia E., Abeles M., Ahisar E., Bergman H., Karmon B., Lavner Y., Margalite E., Nelkel I., and Rotter S. (1991) Neural interactions in the frontal cortex of a behaving monkey: signs of dependence on stimulus context and behavioral state. *Journal Hirnforsch*, 32, pp. 735–43.

Aertsen AM. and Arndt M. (1993) Response synchronization in the visual cortex. *Current Opinion in Neurobiology*, 3, pp. 586–94.

Aguilar J., Vadulla C., Soto C., and Canedo A. (2003). New corticocuneate cellular mechanisms underlying the modulation of cutaneous ascending transmission in anesthetized cats. *Journal of Neurophysiology*, 89, pp. 3328–39.

Alegre M., Labarga A., Gurtubay I., Iriarte J., Malanda A., and Artieda J. (2003). Movement related changes in cortical oscillatory activity in ballistic, sustained and negative movements. *Experimental Brain Research*, 148, pp. 17–25.

Alenda A., and Núñez A. (2004). Sensory-interference in rat primary somatosensory cortical neurons. *European Journal Neuroscience*, 19, pp. 766–70.

Alenda A., and Nuñez A. (2007). Cholinergic modulation of sensory interferente in rat primary somatosensory cortical neurons. *Brain Research*, 1133, pp. 158–167.

Anemüller J., Sejnowski T., and Makeig S. (2003). Complex independent component analysis of frequency—domain electroencephalographic data. *Neural Networks*, 16, pp. 1311–1323.

Amari S., Cichocki A., and Yang H. (1996). A new learning algorithm for blind source separation. *Advancing in Neural Information Process Systems*, 8, pp. 757–763.

Armstrong-James M., and George M.J. (1988). Bilateral receptive fields of cells in rat Sm1 cortex. *Experimental Brain Research*, 70, pp.155-65.

Bair W. and Koch C. (1996). Temporal precision of spike trains in extrastriate cortex of the behaving macaque monkey. *Neural Computation*, 8, pp. 1185-202.

Barlow JS. and Braizer MA. (1954). A note on a correlator for electroencephalographic work. *Electroencephalography Clinical Neurophysiology*, 6, pp. 321–325.

Bayram M. and Baraniuk R. (1996). Multiple window time-frequency analysis, in *Proceedings IEEE International Symposium Time-Frequency. Time-Scale Analysis Paris, France*, pp. 511–514.

Bell A, and Sejnowski T. (1995). An information-maximization approach to blind separation and blind deconvolution. *Neural Computation*, 7, pp. 1129–1159.

Benjamini Y. and Hochberg Y. (1995). Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal State Society Serie B*, 57, pp. 289–300.

Berbel P. and Innocenti GM. (1988).The development of the corpus callosum in cats: a light and electron-microscopic study. *Journal of Comparative Neurology*, 276, pp. 132-156.

Berlucchi G, Gazzaniga MS, and Rizzolatti G. (1967). Microelectrode analysis of transfer of visual information by the corpus callosum. *Archives Italiennes de Biologie*, 105, pp. 583-596.

Berlucchi G. (1972). Anatomical and physiological aspects of visual functions of corpus callosum. *Brain Research*, 37, pp. 371-392.

Bloom JS. and Hynd GW. (2005). The role of the corpus callosum in interhemispheric transfer of information: Excitation or inhibition? *Neurophysiology Review*, 15, pp. 59-71.

Bosking WH., Kretz R., Pucak ML., and Fitzpatrick D. (2000). Functional specificity of callosal connections in tree shrew striate cortex. *Journal of Neuroscience*, 20, pp. 2346-2359.

Brecht M., Preilowski B., and Merzenich M. (1997) Functional architecture of the mystacial vibrissae. *Behavioural Brain Research*, 84, pp. 81-97.

Bressler SL., Coppola R., and Nakamura R. (1993). Episodic multiregional cortical coherence at multiple frequencies during visual task performance. *Nature*, 366(6451), pp.153-156.

Bressler SL. (1995). Large-scale cortical networks and cognition. *Brain Research Reviews*, 20, pp. 288-304

Brillinger DR., Bryant HL., and Segundo JP. (1976). Identification of synaptic interactions. *Biological Cybernetics*, 22, pp. 213-28.

Brillinger DR. (1978). A note on the estimation of evoked response. *Biological Cybernetics*, 31, pp.141-4.

Brillinger DR. (1988). The maximum likelihood approach to the identification of neuronal firing systems. *Annuals in biomedical Engineering*, 16, pp. 3-16.

Brillinger DR. (1988). Maximum likelihood analysis of spike trains of interacting nerve cells. *Biological Cybernetics*, 59, pp.189-200.

Brody CD. (1998). Slow covariations in neuronal resting potentials can lead to artefactually fast cross-correlations in their spike trains. *Journal of Neurophysiology*, 80, pp. 3345-3351.

Brody CD. (1999). Correlation without synchronization. *Neural Computation*, 11, pp.1537-1551

Brown G., Yamada S., and Sejnowski T. (2001) Independent component analysis at the neural cocktail party. *Trends in Neuroscience*, 1, pp. 54–63.

Buechel C. and Friston KJ. (1997). Modulation of connectivity in visual pathways by attention: cortical interactions evaluated with structural equation modeling and fMRI. *Cerebral Cortex*, 7, pp. 768–778.

Büchel C., Dolan RJ., Armony JL., and Friston KJ. (1999). Amygdala-hippocampal involvement in human aversive trace conditioning revealed through event-related functional magnetic resonance imaging. *Journal of Neuroscience*, 19, pp. 10869-10876.

Buechel C. and Friston KJ. (2000). Assessing interactions among neuronal systems using functional neuroimaging. *Neural Network*, 13, pp. 871-82.

Canedo A., and Aguilar J. (2000). Spatial and cortical influences exerted on cuneothalamic and thalamocortical neurons of the cat. *European Journal of Neuroscience*, 12, pp. 2515-2533.

Carmeli C., Knyazeva MG., Innocenti G., and De Feo O. (2005). Assessment of EEG synchronization based on state-space analysis. *Neuroimage*, 25, pp. 339-354.

Carmeli C., Lopez-Aguado L., Kerstin E., Schmidt C., De Feo O., and Innocenti G. (2007) A Novel Interhemispheric Interaction: Modulation of Neuronal Cooperativity in the Visual Areas. PLoS ONE, 2, pp. 1287-1292.

Carvell GE. and Simons DJ. (1990). Biometric analyses of vibrissal tactile discrimination in the rat. Journal of Neuroscience, 10, pp. 2638-2648.

Castellanos NP., Makarov VA., de Feo O., Pérez de Vargas A., and Panetsos F. (2004). Identification of functional neural circuits from extracellular recordings using a novel mathematical method. International congress FENS (Forum of European Neuroscience Society).

Castellanos NP., Makarov VA., Martín JF., Damas J., Barroso-Martín JM., León-Carrión J. and Panetsos F. (2005). Determinación del patrón de conectividad cerebral a partir de EEGs en pacientes con daño cerebral con métodos estadísticos y deterministas. Congreso nacional SENC (Sociedad Española de Neurociencia).

Castellanos NP., Makarov VA., Sánchez-Ramos C., and Panetsos F. (2005). Determining brain connectivity patterns in presence of artifacts using EEG. Journal of Mapfre Medicine, 17, pp: 273-279.

Castellanos NP. and Makarov VA. (2006). Identification of functional connectivity patterns from EEG recordings in the presence of artefacts. International congress FENS (Forum of European Neuroscience Society).

Castellanos NP., and Makarov VA. (2006). Recovering EEG brain signals: Artifact suppression with wavelet enhanced independent component analysis. Journal of Neuroscience Methods, 158, pp. 300–312.

Castellanos NP., Makarov VA., Sánchez-Ramos C., and Panetsos F. (2007). New EEG artifact removal method based on Independent Component Analysis and Wavelet transform. Journal of Mapfre Medicine, 18-II, pp: 2-9.

Castellanos NP., Malmierca E., Nuñez A., and Makarov VA (2007). Corticofugal modulation of the tactile response coherence of projecting neurons in the gracilis nucleus. Journal of Neurophysiology, 98, pp. 2537-49.

Classen J., Knorr U., Werhahn KJ., Schlaug G., Kunesch E., Cohen LG., Seitz RJ., and Benecke R. (1998). Multimodal output mapping of human central motor representation on different spatial scales. Journal Physiology, 1, pp.163-179.

Cissé Y., Grenier F., Timofeev I., and Steriade M. (2003). Electrophysiological properties and input-output organization of callosal neurons in cat association cortex. Journal of Neurophysiology, 89, pp. 1402-1413.

Corballis MC. (1995). Visual integration in the split brain. Neuropsychological, 33, pp. 937-959.

Dahlhaus R., Eichler M., and Sandkühler J. (1997). Identification of synaptic connections in neural ensembles by graphical models. *Journal of Neuroscience Methods*, 77, pp. 93-107.

DeBiasi S., Vitellaro-Zucarello L., Bernardi P., Valtschanoff JG., and Weinberg R. (1994). Ultrastructural and immunocytochemical characterization of terminals of postsynaptic ascending dorsal column fibers in the rat cuneate nucleus. *Journal of Comparative Neurology*, 353, 109-118.

deCharms RC. and Merzenich M. (1996). Primary cortical representation of sounds by the coordination of action-potential timing. *Nature*, 381, pp. 610-613.

Delorme A., and Makeig S. (2004). EEGLAB: an open source toolbox for analysis of singletrial EEG dynamics including independent component analysis. *Journal of Neuroscience Methods*, 134, pp. 9–21.

Ding M., Bressler SL., Yang W., and Liang H. (2000). Short-window spectral analysis of cortical event-related potentials by adaptive multivariate autoregressive modeling: data preprocessing, model validation, and variability assessment. *Biological Cybernetics*, 83, pp. 35-45.

Donoghue JP., Sanes JN., Hatsopoulos NG., and Gaál G. (1998). Neural discharge and local field potential oscillations in primate motor cortex during voluntary movements. *Journal of Neurophysiology*, 79, pp. 159-73.

Donoho DL., Johnstone IM., Kerkycharian G., and Picardi D. (1995). Wavelet shrinkage: asymptopia?. *Journal of Royal State Society*, B57, pp. 301–369.

Dunn RC. and Tolbert DL. (1982). The corticotrigeminal projection in the cat. A study of the organization of cortical projections to the spinal trigeminal nucleus. *Brain Research*, 240, pp. 13-25.

Eckhorn R., Schneider J., and Keidel R. (1986). Real-time covariance computer for cell assemblies is based on neuronal principles. *Journal of Neuroscience Methods*. 18, pp. 371-83.

Eckhorn R., Bauer R., Jordan W., Brosch M., Kruse W., Munk M., and Reitboeck HJ. (1988). Coherent oscillations: A mechanism for feature linking in the visual cortex? *Biological Cybernetics*, 60, pp. 121–130.

Edelman G., and Mountcastle V. (1978), *The Mindful Brain: Cortical reorganization and the Group Selective Theory of Higher Brain Function*. Cambridge, Mass. MIT Press.

Edelman G. (1987). *Neural Darwinism. The Theory of Neuronal Group Selection* – Basic Books New York.

Eichler M., Dahlhaus R., and Sandkühler J. (2003). Partial correlation analysis for the identification of synaptic connections. *Biological Cybernetics*, 89, pp. 289-302.

Engel, A. K., König, P., Gray, C. M., & Singer, W. (1990). Stimulus-dependent neuronal oscillations in cat visual cortex: Inter-columnar interaction as determined by crosscorrelation analysis. *European Journal of Neuroscience*, 2, 588–606.

Engel A., König P., Kreiter AK., and Singer W. (1991). Interhemispheric synchronization of oscillatory neuronal responses in cat visual cortex. *Science*, 252, pp. 1177–1179.

Engel A., König K., Kreiter P., Schillen AK., and Singer W. (1992). Temporal coding in the visual cortex: New vistas on integration in the nervous system. *Trends in Neurosciences*, 15, pp. 218–226

Engel A., Roelfsema P., Fries P., Brecht M., and Singer W. (1997). Role of the Temporal Domain for Response Selection and Perceptual Binding. *Cerebral Cortex*, 7, pp. 571–582;

Erzurumlu RS, Jhaveri S. (1990). Thalamic axons confer a blueprint of the sensory periphery onto the developing rat somatosensory cortex. *Brain Research*, 56, pp. 229-34.

Fabri M. and Manzoni T. (1996). Glutamate decarboxylase immunoreactivity in corticocortical projecting neurons of rat somatic sensory cortex. *Neuroscience*, 72, pp. 435-448.

Fabri M., Polonara G., Mascioli G., Paggi P., Salvolini U., and Manzoni T. (2006). Contribution of the corpus callosum to bilateral representation of the trunk midline in the human brain: an fMRI study of callosotomized patients. *European Journal of Neuroscience*, 23, pp. 3139-3148.

Farge M. (1992), Wavelet transforms and their applications to turbulence, *Annual Reviews of Fluid Mechanism*, 24, pp. 395{457.

Felleman N. and Van Essen D. (1991) Distributed Hierarchical Processing in the Primate Cerebral Cortex. *Cerebral Cortex*, 1, pp. 1-47

Feliciano M., and Potashner SJ. (1995). Evidence for a glutamatergic pathway from the guinea pig auditory cortex to the inferior colliculus. *Journal Neurochemistry*, 65, pp. 1348-1357.

Ferster D. (1986). Orientation selectivity of synaptic potentials in neurons of cat primary visual cortex. *Journal of Neuroscience*, 6, pp. 1284-1301.

Flexer A., Bauer H., Pripfl J., and Dorffner G. (2005). Using ICA for removal of ocular artefacts in EEG recorded from blind subjects. *Neural Networks*, 18, pp. 998–1005.

Friedberg MH., Lee SM., and Ebner FF. (2004). The contribution of the principal and spinal trigeminal nuclei to the receptive field properties of thalamic VPM neurons in the rat. *Journal Neurocytology*, 33, pp. 75-85.

Friston KJ. (1994). Functional and effective connectivity in neuroimaging: a synthesis. *Human Brain Mapping*, 2, pp. 56–78.

Friston K. (1998). Modes or models: a critique on independent component analysis for fMRI. *Trends in Cognitive Science*, 2, pp. 373–375.

Galuske RA., Schmidt KE., Goebel R., Lomber SG., and Payne BR. (2002). The role of feedback in shaping neural representations in cat visual cortex. *Proceedings in National Academic Science U S A*, 99, pp. 17083-17088.

Gerstein GL., and Perkel DH. (1969). Simultaneously recorded trains of action potentials: analysis and functional interpretation. *Science*, 164, pp. 828-30.

Gerstein GL., Perkel DH., and Subramanian KN. (1978) Identification of functionally related neural assemblies. *Brain Research*, 140, pp. 43–62.

Gerstein GL., and Aertsen AM. (1985). Representation of cooperative firing activity among simultaneously recorded neurons. *Journal of Neurophysiology*, 54, pp. 1513-28.

Gerstein GL., Bedenbaugh P., and Aertsen MH. (1989). Neuronal assemblies. *IEEE Transaction in Biomedical Engineering*, 36, pp. 4-14.

Gerstner W. (1995). Time structure of the activity in neural network models. *Physical Review E*, 51, pp. 738–48.

Gerstner W. and Kistler W. (2002). Spiking neuron models. Single neuron, populations, plasticity. Cambridge University Press.

Gevins AS., Doyle JC., Cuttillo BA., Schaffer RE., Tannehill RS., and Bressler S.L. (1985). Neurocognitive pattern analysis of a visuospatial task: rapidly-shifting foci of evoked correlations between electrodes. *Psychophysiology*, 22, pp. 32–43.

Gilbert CD. and Wiesel TN. (1989). Columnar specificity of intrinsic horizontal and corticocortical connections in cat visual cortex. *Journal of Neuroscience* 9, pp. 2432-2442.

Girard JM., Hupe M., and Bullier J. (2001). Feedforward and Feedback Connections Between Areas V1 and V2 of the Monkey Have Similar Rapid Conduction Velocities. *Journal of Neurophysiology*, 85, pp.1328-1331.

Glazewski S., Benedetti BL., and Barth AL. (2007). Ipsilateral whiskers suppress experience-dependent plasticity in the barrel cortex. *Journal of Neuroscience*, 27, pp. 3910-3920.

Goelz H., Jones R., and Bones P. (2000). Wavelet analysis of transient biomedical signals and its application to detection of epileptiform activity in the EEG. *Clinical Electroencephalography*, 31, pp. 181–191.

Granger CWJ. (1969) Investigating causal relations by econometric models and cross-spectral methods. *Econometrics*, 37, pp. 424–38.

Gray CM., and Singer W. (1989). Stimulus-specific neuronal oscillations in orientation columns of cat visual cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 86, pp. 1698–1702.

Gray CM., and McCormick DA. (1996). Chattering cells: superficial pyramidal neurons contributing to the generation of synchronous oscillations in the visual cortex. *Science*, 274, pp. 109-13.

Gray CM. and Viana Di Prisco G. (1997). Stimulus-dependent neuronal oscillations and local synchronization in striate cortex of the alert cat. *Journal of Neuroscience*, 17, pp. 3239–3253.

Grinsted A. Moore JC., and Jevrejeva S. (2004). Application of the cross wavelet transform and wavelet coherence to geophysical time series. *Nonlinear Processes in Geophysics*, 11, pp. 561–566.

Gustafson JW. and Felbain-Keramidas SL. (1977). Behavioral and neural approaches to the function of the mystacial vibrissae. *Psychological Bulletin*, 84, pp. 477-488.

Hebb DO. (1949). *The organization of behavior*. New York: Wiley.

Herrojo MR., Koelsch S. and Bhattacharya J. (2008). Decrease in early right alpha band phase synchronization and late gamma band oscillations in processing syntax in music. *Humman Brain Mapping*. In press.

Herrojo MR, Senghaas P., Grossbach M., Jabusch HC., Bangert M., Hummel F., Gerloff C., and Altenmüller E. (2008b). Defective inhibition and inter-regional phase synchronization in pianists with musician's dystonia (MD): an EEG study. *Journal of Neuroscience*. In press.

Horwitz B. (2003). The elusive concept of brain connectivity. *NeuroImage*, 19, pp. 466–470

Houzel JC., Milleret C., and Innocenti G. (1994). Morphology of callosal axons interconnecting areas 17 and 18 of the cat. *European Journal of Neuroscience*, 6, pp. 898-917.

Hubel DH. and Wiesel TN. (1979). *Brain mechanisms of vision*. *Science American*, 241, pp. 150-62.

Hutson KA., and Masterton RB. (1986). The sensory contribution of a single vibrissa's cortical barrel. *Journal Neurophysiology* 56, pp. 1196-1223.

Hyvärinen A. and Pajunen P. (1999). Nonlinear independent component analysis: existence and uniqueness results. *Neural Networks*, 12, pp. 209–219.

Innocenti GM., Manzoni T., and Spidalieri G. (1972). Peripheral and transcallosal reactivity of neurones within SI and SII cortical areas. Segmental divisions. *Archives Italienne Biologie*, 110, pp. 415- 443.

Innocenti GM., Manzoni T., and Spidalieri G. (1973). Relevance of the callosal transfer in defining the peripheral reactivity of somesthetic cortical neurones. *Archives Italienne en Biologie*, 111, pp. 187-221.

Innocenti GM. 1980. The primary visual pathway through the corpus callosum: morphological and functional aspects in the cat. *Archives Italienne Biologie*, 118, pp. 124-88.

Innocenti GM. (1981). Growth and reshaping of axons in the establishment of visual callosal connections. *Science*, 212, pp. 824-827.

Innocenti GM. (1982). Development of interhemispheric cortical connections. *Neuroscience Research Program Bulletin*, 20, pp. 532-40.

Innocenti GM. (1986). General organization of callosal connections in the cerebral cortex. In: *Cerebral Cortex* vol. 5 edited by Jones EG, Peters A, New York: Plenum Publishing Corporation pp. 291-353.

Innocenti GM., Aggoun-Zouaoui D., and Lehmann P. (1995). Cellular aspects of callosal connections and their development. *Neuropsychological*, 33, pp. 961-987.

Innocenti GM., Manger PR., Masiello I., Colin I., and Tettoni L. (2002). Architecture and callosal connections of visual areas 17, 18, 19 and 21 in the ferret (*Mustela putorius*). *Cerebral Cortex*, 12, pp. 411-22.

Innocenti GM. and Price DJ. (2005). Exuberance in the development of cortical networks. *Nature Review of Neuroscience*, 6, pp. 955-965.

Iriarte J., Urrestarazu E., Valencia M., Alegre M., Malanda A. and Viteri C. (2003). Independent component analysis as a tool to eliminate artifacts in EEG: a quantitative study. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 20, pp. 249–257.

Jabbur SJ., and Towe AL. (1961). Analysis of the antidromic cortical response following stimulation at the medullary pyramids. *Journal of Physiology (London)*, 155, pp. 148-60.

James C., and Gibson O. (2003). Temporally constrained ICA: an application to artefact rejection in electromagnetic brain signal analysis. *IEEE Transaction in Biomedical Engineering*, 50, pp. 1108–1116.

James C. and Hesse C. (2005). Independent component analysis for biomedical signals. *Physiological Measurements*, 26, pp. 15–39.

James CJ., and Lowe D. (2003). Extracting multisource brain activity from single EM channel. *Artificial Intelligence*, 28, pp. 89–104.

Jarvis MR. and Mitra PP. (2002). Sampling Properties of the Spectrum and Coherency of Sequences of Action Potentials. *Neural Computation*, 13, pp. 717–749.

Jen P., Zhou X., Zhang J., and Sun X. (2002). Brief and short-term corticofugal modulation of acoustic signal processing in the bat midbrain. *Hear Research*, 168, pp. 196–207.

Joyce C., Gorodnitsky I., and Kutas M. (2004). Automatic removal of eye movement and blink artifacts from EEG data using blind component separation. *Psychophysiology*, 41, pp. 313–325.

Jung T., Humphries C., Lee T., McKeown M., Iragui V., and Makeig S. (2000). Removing electroencephalographic artifacts by blind source separation. *Psychophysiology*, 37, pp. 163–178.

Jung T., Makeig S., Westerfield M., Townsend J., Courchesne E., and Sejnowski T. (2000). Removal of eye activity artifacts from visual event-related potentials in normal and clinical subjects. *Clinical Neurophysiology*, 11, pp. 1745–1758.

Kalaska JF. and Crammond DJ. (1992) Cerebral cortical mechanisms of reaching movements. *Science*, 255, pp. 1517–1523.

Kandel ER., Schwartz JH. and Jessell TM. (2000). *Principles of neural science*. McGraw-Hill, New York, NY; London.

Kaminiski MJ. and Blinowska KJ. (1991). A new method of the description of the information flow in the brain structures. *Biological Cybernetics*, 65, pp. 203–210.

Kaminski M., Ding M., Truccolo W., and Bressler S. (2000). Evaluating causal relations in neural systems: Granger causality, directed transfer function and statistical assessment of significance. *Biological Cybernetics*, 85, pp. 145–157.

Karayannis T., Huerta-Ocampo I., and Capogna M. (2007). GABAergic and pyramidal neurons of deep cortical layers directly receive and differently integrate callosal input. *Cerebral Cortex*, 17, pp. 1213–1226.

Kaur S., Lazar R., and Metherate R. (2004). Intracortical pathway determine breadth of subthreshold frequency receptive fields in primary auditory cortex. *Journal of Neurophysiology*, 91, pp. 2551–2567.

Kierkels J., Boxtel G., Vogten L. (2006). A model-based objective evaluation of eye movement correction in EEG recordings. *IEEE Transaction on Biomedical Engineering*, 53, pp. 246–253.

Killackey HP. (1973). Anatomical evidence for cortical subdivisions based on vertically discrete thalamic projections from the ventral posterior nucleus to cortical barrels in the rat. *Brain Research*, 51, pp. 326-331.

Kiper DC., Knyazeva MG., Tettoni L., and Innocenti GM. (1999). Visual stimulus-dependent changes in interhemispheric EEG coherence in ferrets. *Journal of Neurophysiology*, 82, pp. 3082-3094.

Kisvárdy ZF., Kim DS., Eysel UT., and Bonhoeffer T. (1994). Relationship between lateral inhibitory connections and the topography of the orientation map in cat visual cortex. *European Journal of Neuroscience*, 6, pp. 1619-1632.

Kitzes LM. and Doherty D. (1994). Influence of callosal activity on units in the auditory cortex of ferret (*Mustela putorius*). *Journal of Neurophysiology*, 71, pp. 1740-1751.

Klein A., Sauer T., Jedynak A., and Skrandies W. (2006). Conventional and wavelet coherence applied to sensory-evoked electrical brain activity. *IEEE Transaction on Biomedical Engineering*, 53, pp. 266-272.

Knox CK. and Poppele RE. (1977). Correlation analysis of stimulus-evoked changes in excitability of spontaneously firing neurons. *Journal of Neurophysiology*, 40, pp. 616-625.

Knyazeva MG., Kiper DC., Vildavsky VJ., Despland PA., Maeder-Ingvar M., and Innocenti GM. (1999). Visual stimulus-dependent changes in interhemispheric EEG coherence in humans. *Journal of Neurophysiology*, 82, pp. 3095-3107.

Knyazeva MG., Fornari E., Meuli R., Innocenti G., and Maeder P. (2006). Imaging a synchronous neuronal assembly in the human visual brain. *Neuroimage*, 29, pp. 593-604.

König P. and Engel AK. (1995). Correlated firing in sensory motor systems. *Current Opinion in Neurobiology*, 5, pp. 511-519.

König P., Engel AK., and Singer W. (1995). The relation between oscillatory activity and long-range synchronization in cat visual cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 92, pp. 290–294.

Korzeniewska A., Manczak M., Kaminski M., Blinowska K. and Kasicki S. (2003). Determination of information flow direction among brain structures by a modified directed transfer function (dDTF) method. *Journal of Neuroscience Methods*, 125, pp. 195-207.

Kreiter AK., and Singer W. (1992). Oscillatory neuronal responses in the visual cortex of the awake macaque monkey. *European Journal of Neuroscience*, 4, pp. 369–375.

Kreiter AK., and Singer W. (1996). Stimulus-dependent synchronization of neuronal responses in the visual cortex of awake macaque monkey. *Journal of Neuroscience*, 16, pp. 2381–2396.

Kuypers HG. and Tuerk JD. (1964). The distribution of the cortical fibres within the nuclei cuneatus and gracilis in the cat. *Journal of Anatomy*, 98, pp.143-162.

Lachaux JP. Rodriguez E., Martinerie J. and Varela F. (1999). Measuring phase-synchrony in brain signals. *Human Brain Mapping*, 8, pp. 194-208

Lachaux JP., Rodriguez E., Martinerie J., Adam C., Hasboun D. and Varela F. (2000a) Gamma-band activity in human intracortical recordings triggered by cognitive tasks. *European Journal of Neuroscience*, 12, pp. 1-15.

Lachaux JP., Rodriguez E., Martinerie J., Adam C., Hasboun D., Varela FJ. (2000b). A quantitative study of gamma-band activity in human intracranial recordings triggered by visual stimuli. *European Journal of Neuroscience*, 12, pp. 2608-2622.

Lachaux JP., Lutz A., Rudrauf D., Cosmelli D., Le Van Quyen M., Martinerie J., and Varela F. (2002). Estimating the time-course of coherence between single-trial brain signals: an introduction to wavelet coherence. *Neurophysiology Clinical*, 32, pp. 157-74.

LaMantia AS. and Rakic P. (1990). Cytological and quantitative characteristics of four cerebral commissures in the rhesus monkey. *Journal of Comparative Neurology*, 291, pp. 520-537.

Langsrud O. (2002). 50-50 multivariate analysis of variance for collinear responses. *The Statistician*, 51, pp. 305-317.

Lapicque L. (1907). Recherches quantitaives sur l'excitation électrique des nerfs traitée comme une polarisation. *Journal of Physiology (Paris)*, 9, pp. 620-635.

Le Van Quyen MJ., Foucher J, Lachaux JP., Rodríguez E., Lutz A., Martinerie J., and Varela F. (2001) Comparison of Hilbert transform and wavelet methods for the analysis of neuronal synchrony. *Journal of Neuroscience Methods*, 111, pp. 83–98.

Lee D. (2002) Analysis of phase-locked oscillations in multi-channel single-unit spike activity with wavelet cross-spectrum. *Journal of Neuroscience Methods*, 115, pp. 67-75

Lee D. (2003). Coherent Oscillations in Neuronal Activity of the Supplementary Motor Area during a Visuomotor Task. *Journal of Neuroscience*, 23, pp. 6798–6809

Lee T., Girolomi M., and Sejnowski T. (1999). Independent component analysis using an extended infomax algorithm for mixed subgaussian and supergaussian sources. *Neural Computation*, 11, pp. 417-441.

Lee L., Harrison LM., and Mechelli A. (2003). The functional brain connectivity workshop: report and commentary. *Neuroimage*, 19, pp. 457-465.

Lepore F., Samson A., Paradis MC., Ptito M., and Guillemot JP. (1992). Binocular interaction and disparity coding at the 17-18 border: Contribution of the corpus callosum. *Experimental Brain Research*, 90, pp. 129-140.

Lepore F. and Guillemot JP. (1982). Visual receptive field properties of cells innervated through the corpus callosum in the cat. *Experimental Brain Research*, 46, pp. 413-424

Li L. and Ebner F. (2006). Balancing bilateral sensory activity: callosal processing modulates sensory transmission through the contralateral thalamus by altering response threshold. *Experimental Brain Research*, 172, pp. 397-415.

Li X., Yao X., Fox J., and Jefferys JG. (2007). Interaction dynamics of neuronal oscillations analysed using wavelet transforms. *Journal of Neuroscience Methods*, 160, pp. 178–185.

Livanov MN. (1977). *Spatial Organization of Cerebral Processes*, Wiley, New York.

Livingstone M. and Hubel D. (1988) Segregation of form, color, movement and depth: Anatomy, physiology, and perception. *Science*, 240, pp. 740-749.

Lo F., Guido W., and Erzurumlu RS. (1999). Electrophysiological properties and synaptic responses of cells in the trigeminal principal sensory nucleus of postnatal rats. *Journal Neurophysiology*, 82, pp. 2765-2775.

Lomber SG., Payne BR., and Cornwell P. (1996). Learning and recall of form discriminations during reversible cooling deactivation of ventral-posterior suprasylvian cortex in the cat. *Proceeding on National Academic of Science USA*, 93, pp.1654-1658.

Lomber SG., Cornwell P., Sun JS., MacNeil MA., and Payne BR. (1994). Reversible inactivation of visual processing operations in middle suprasylvian cortex of the behaving cat. *Proceeding on National Academic of Science USA*, 91, pp. 2999-3003.

Lomber SG., Payne BR., and Horel JA. (1999). The cryoloop: an adaptable reversible cooling deactivation method for behavioral or electrophysiological

assessment of neural function. *Journal of Neuroscience Methods*. 86, pp. 179-194.

Lovett EG., and Ropella KM. (1997): Time-frequency coherence analysis of atrial fibrillation termination during procainamide administration. *Annual Biomedical Engineering*, 25, pp. 975–984

Löwel S. and Singer W. (1992). Selection of intrinsic horizontal connections in the visual cortex by correlated neuronal activity. *Science*, 255, pp. 209-212.

Lue JH., Jiang-Shieh YF., Shieh JY., and Wen CY. (1996). The synaptic interrelationships between primary afferent terminals, cuneothalamic relay neurons and GABAimmunoreactive boutons in the rat cuneate nucleus. *Neuroscience Research*, 24, pp. 363-371.

Lutzenberg W., Rockstroh ET., and Birbaumer N. (1994). Focused arousal and 40 Hz EEG. *Proceeding on National Academic of Science USA*, 91, pp. 11748–11751.

Mainen ZF. and Sejnowski TJ. (1995). Reliability of spike timing in neocortical neurons. *Science*, 268, pp. 1503-1506

Makarov VA., Schmidt KE., Castellanos NP., Lopez-Aguado L., and Innocenti GM. (2007). Stimulus-Dependent Interaction between the Visual Areas 17 and 18 of the 2 Hemispheres of the Ferret (*Mustela putorius*). *Cerebral Cortex*, 7.

Makinen V., May P., and Tiitinen H. (2004). Spectral characterization of ongoing and auditory event-related brain process. *Neurological Clinical Neurophysiology* 3, pp.104.

Mallat S. (1998). *A wavelet tour of signal processing*. San Diego: Academic Press.

Malmierca E., Castellanos NP., Makarov VA., and Nuñez A. (2008). Corticofugal modulation of tactile responses of neurons in the spinal trigeminal nucleus. A wavelet coherence study. En *Advancing artificial intelligence through biological process applications*. Ed: Alejandro Pazos Sierra, Ana Belén Porto Pazos y Washington Buño. Information Science Reference – ISR. Idea group Inc. 2008.

Malmierca E. and Nuñez A. (1998). Corticofugal action on somatosensory response properties of rat nucleus gracilis cells. *Brain Research*, 810, pp. 172-180.

Malmierca E. and Nuñez A. (2004). Primary somatosensory cortex modulation of tactile responses in nucleus gracilis cells of rats. *European Journal of Neuroscience*, 19, pp. 1572-1580.

Malinowski ER. (1991). *Factor analysis in chemistry*, 2nd ed. New York: 715 John Wiley & Sons.

Manger PR., Kiper D., Masiello I., Murillo L., Tettoni L., Hunyadi Z., and Innocenti GM. (2002). The representation of the visual field in three extrastriate areas of the ferret (*Mustela putorius*) and the relationship of retinotopy and field boundaries to callosal connectivity. *Cerebral Cortex*, 12, pp. 423-437.

Mariño J., Schummers J., Lyon DC., Schwabe L., Beck O., Wiesing P., Obermayer K., Sur M. (2005). Invariant computations in local cortical networks with balanced excitation and inhibition. *Nature Neuroscience*, 8, pp. 194-201.

McCourt ME., Thalluri J., and Henry GH. (1990). Properties of area 17/18 border neurons contributing to the visual transcallosal pathway in the cat. *Visual Neuroscience*, 5, pp. 83-98.

McIntosh AR. and Gonzalez-Lima F. (1992). Structural modeling of functional visual pathways mapped with 2-deoxyglucose: effects of patterned light and footshock. *Brain Research*, 578, pp. 75–86.

McIntosh AR., Sekuler AB., Penpeci C., Rajah MN., Grady CL., Sekuler R., and Bennett PJ. (1999). Recruitment of unique neural systems to support visual memory in normal aging. *Current Biology*, 9, pp.1275-8.

Mechelli A., Penny WD., Price CJ., Gitelman DR., and Friston KJ. (2002). Effective connectivity and intersubject variability: using a multisubject network to test differences and commonalities. *Neuroimage*, 17, pp. 1459– 1469.

Melissant C., Ypma A., Fritman E., and Stam C. (2005). A method for detection of alzheimer's disease using ICA-enhanced EEG measurements. *Artificial Intelligence*, 33, pp. 209–222.

Meyers S.D., Kelly BG., and O'Brien JJ. (1993). An introduction to wavelet analysis in oceanography and meteorology: With application to the dispersion of Yanai waves. *Weather Review*, 121, pp. 2858–2866.

Milner PM. (1974). A model for visual shape recognition. *Psychology Review*, 81, pp. 521–535

Miltner WH, Braun C., Arnold M., Witte H., and Taub E. (1999). Coherence of gamma-band EEG activity as a basis for associative learning. *Nature*, 397, pp. 434– 436.

Monier C., Chavane F., Baudot P., Graham LJ., and Frégnac Y. (2003). Orientation and direction selectivity of synaptic inputs in visual cortical neurons: a diversity of combinations produces spike tuning. *Neuron*, 37, pp. 663-680.

Mountcastle V. (1998). *Perceptual Neuroscience: The Cerebral Cortex*, Harvard University Press, Cambridge, MA.

Mormann F., Fell J., Axmacher N., Weber B., Lehnertz K., and Elger C. (2005). Phase/amplitude reset and theta-gamma interaction in the human

medial temporal lobe during a continuous word recognition memory task. *Hippocampus*, 15, pp. 890–900.

Moore GP., Perkel DH., and Segundo JP. (1966). Statistical analysis and functional interpretation of neuronal spike data. *Annual Review Physiology*, 28, pp. 493-522.

Munk MHJ., Nowak LG., Nelson JI., and Bullier J. (1995). Structural basis of cortical synchronization. II. Effects of cortical lesions. *Journal of Neurophysiology*, 74, pp. 2401-2414.

Murata A. (2005). An attempt to evaluate mental workload using wavelet transform of EEG. *Human Factors*, 47, pp. 498–508.

Murthy VN., and Fetz EE. (1996), Oscillatory activity in sensorimotor cortex of awake monkeys: synchronization of local field potentials and relation to behaviour. *Journal of Neurophysiology*, 76, pp.3949-3967.

Nakamura H., Chaumon M., Klijn F., and Innocenti GM. (2007). Dynamic properties of the representation of the visual field midline in the primary visual areas of the ferret (*Mustela Putorius*). *Cerebral Cortex*.

Nicolelis ML., Baccala LA., Lin RCS., and Cahpin JK. (1995). Sensorimotor encoding by synchronous neural ensembles activity at multiple levels of the somatosensory system. *Science*, 268, pp. 1353-1358.

Núñez A. And Buño W. (1999). In vitro electrophysiological properties of rat dorsal column nuclei neurons. *European Journal of Neuroscience*, 11, pp. 1865-1876.

Núñez A. and Buño W. (2001). Properties and plasticity of synaptic inputs to rat dorsal column neurones recorded in vitro. *Journal of Physiology (London)*, 535, pp. 483-495.

Núñez A., Panetsos F., and Avendaño C. (2000). Rhythmic neuronal interactions and synchronization in the rat dorsal column nuclei. *Neuroscience*, 100, pp. 599-609.

Olavarria J., Van Sluyters RC., and Killackey HP. (1984). Evidence for the complementary organization of callosal and thalamic connections within rat somatosensory cortex. *Brain Research*, 291, pp. 364-368.

Palm G., Aertsen AM., and Gerstein GL. (1988). On the significance of correlations among neuronal spike trains. *Biological Cybernetics*, 59, pp. 1-11.

Palm G. (1990) Cell assemblies as a guideline for brain research. *Concepts in Neuroscience*, 1, pp. 133-147.

Panetsos F., Núñez A., and Avendaño C. (1997). Electrophysiological effects of temporary differentiation on two characterized cell types in the nucleus gracilis of the rat. *European Journal of Neuroscience*, 9, pp. 563-572.

Panetsos F., Núñez A., and Avendaño C. (1998). Sensory information processing in the dorsal column nuclei by neuronal oscillators. *Neuroscience*, 84, pp. 635-639.

Passingham RE., Stephan KE., and Kötter R. (2002). The anatomical basis of functional localization in the cortex. *Nature Review Neuroscience*, 3, pp. 606-16.

Patrick GW, Robinson MA. (1987). Collateral projections from trigeminal sensory nuclei to ventrobasal thalamus and cerebellar cortex in rats. *Journal of Morphology*, 192, pp. 229-36.

Payne BR., Siwek DF., and Lomber SG. (1991). Complex transcallosal interactions in visual cortex. *Visual Neuroscience*, 6, pp. 283-289.

Ptito M. (2003). Functions of the corpus callosum as derived from split-chiasm studies in cats. In: *The parallel brain: the cognitive neuroscience of the corpus callosum* edited by Zaidel E and Iacoboni MC. Cambridge Mass: MIT Press, pp. 139-153.

Pavlov AN., Makarov VA., Mosekilde E., and Sosnovtseva OV. (2006). Application of wavelet-based tools to study the dynamics of biological processes. *Briefings in Bioinformatics*, 7, pp. 375-389.

Pavlov AN., Tupitsyn AN., Makarov VA., Panetsos F., Moreno A., Garcia-Gonzalez V., and Sanchez-Jimenez A. (2007). Tactile information processing in the trigeminal complex of the rat.

Percival D. and Walden AT. (1993). *Spectral analysis for physical applications*. Cambridge University Press.

Perkel DH., Gerstein GL., and Moore GP. (1967a). Neuronal spike trains and stochastic point processes. II. Simultaneous spike trains. *Biophysics Journal*, 74, pp. 419-40.

Perkel DH., Gerstein GL., and Moore GP. (1967b). Neuronal spike trains and stochastic point processes. I. The single spike train. *Biophysics Journal*, 7, pp. 391-418.

Peschanski M. (1984). Trigeminal afferents to the diencephalon in the rat. *Neuroscience*, 12, pp. 465-487.

Peters A., Payne BR., and Josephson K. (1990). Transcallosal non-pyramidal cell projections from visual cortex in the cat. *Journal of Comparative Neurology*, 302, pp. 124-142

Pfurtscheller G. and Andrew C. (1999). Event-related changes of band power and coherence: methodology and interpretation. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 16, pp. 512–519.

Pulvermüller F., Eulitz C., Pantev C., Mohr B., Feige B., Lutzenberger W., Elbert T., and Birbaumer N. (1996). Gamma-band brain responses reflect lexical processing: an MEG study. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 98, pp. 76-85.

Quiroga R. and Garcia H. (2003). Single-trial event-related potentials with wavelet denoising. *Clinical Neurophysiology*, 114, pp. 376–390.

Ramachandran VS., Cronin-Golomb A., and Myers JJ. (1986). Perception of apparent motion by commissurotomy patients. *Nature*, 320, pp. 358-359.

Ressot C., Collado V., Molat JL., and Dallel R. (2001). Strychnine alters response properties of trigeminal nociceptive neurons in the rat. *Journal Neurophysiology*, 86, pp. 3069-3072.

Reynolds JH., Chelazzi L., and Desimone R. (1999). Competitive mechanisms subserve attention in macaque areas V2 and V4. *Journal Neuroscience*, 19, pp. 1736-1753.

Rocheffort NL., Buzás P., Kisvárdy ZF., Eysel UT., and Milleret C. (2007). Layout of transcallosal activity in cat visual cortex revealed by optical imaging. *Neuroimage*, in press.

Rodriguez E., George N., Lachaux JP., Martinerie J., Renault B. and Varela F. (1999). Perception's shadow: Long-distance synchronization in the human brain. *Nature*, 397, pp. 340-343.

Roelfsema PR., König P., Engel AK., Sireteanu R., and Singer W. (1994). Reduced synchronization in the visual cortex of cats with strabismic amblyopia. *European Journal of Neuroscience*, 6, pp. 1645– 1655.

Roelfsema PR., Engel AK., König P., and Singer W. (1996). The role of neuronal synchronization in response selection: A biologically plausible theory of structured representation in the visual cortex. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 8, pp. 603–625.

Roelfsema PR., Engel AK., König P., and Singer W. (1997). Visuomotor integration is associated with zero time-lag synchronization among cortical areas. *Nature*, 385, pp. 157–161.

Rosenberg J, Amjad A., Breeze P., Brillinger D., and Halliday D. (1989). The Fourier approach to the identification of functional coupling between neuronal spike trains. *Progress in Biophysics Molecular Biology*, 53, pp. 1-31.

Rose M., Sommer T., and Büchel C. (2006). Integration of local features to a global percept by neural coupling. *Cerebral Cortex*, 16, pp.1522-1528.

Roy S. and Alloway KD. (1999). Synchronization of local neural networks in the somatosensory cortex: a comparison of stationary and moving stimuli. *Journal of Neurophysiology*, 81, pp. 999-1013.

Rustioni A. and Weinberg RJ. The somatosensory system. In: Björklund A., Hökfelt T., and Swanson LW. (eds). *Handbook of chemical neuroanatomy*. Elsevier, Amsterdam, pp. 219-221.

Sameshima K. and Baccalá L. A. (1999). Using partial directed coherence to describe neuronal ensemble interactions. *Journal of Neuroscience Methods*, 94, pp. 93-103.

Scannell JW., Blackmore C., Young MP. (1995). Analysis of connectivity in the cat cerebral cortex. *Journal of Neuroscience*, 15, pp. 1463-83.

Scannell JW., Burns GA., Hilgetag CC., O'Neil MA., and Young MP. (1999). The connectional organization of the cortico-thalamic system of the cat. *Cerebral Cortex*, 9, pp. 277-299.

Schiff S., Aldroubi A., Unser M., and Sato S. (1994). Fast wavelet transformation of EEG. *Electroencephalography Clinical Neurophysiology*, 91, pp. 442-455.

Schmidt KE., Kim DS., Singer W., Bonhoeffer T., and Löwel S. (1997). Functional specificity of long-range intrinsic and interhemispheric connections in the visual cortex of strabismic cats. *Journal of Neuroscience*, 17, pp. 5480-5492.

Schmidt KE., Lomber SG., and Innocenti GM. (2005). Impact of interhemispheric connections on orientation preference maps in areas 17 and 18 of the ferret. *Society of Neuroscience abstract*, 508.13.

Smith RL. (1973). The ascending fiber projections from the principal sensory trigeminal nucleus in the rat. *Journal Comparative Neurology*, 148, pp. 423-436.

Smith AT., Singh KD., and Greenlee MW. (2000). Attentional suppression of activity in the human visual cortex. *Neuroreport*, 7, pp. 271-277.

Schreiber T. and Schmitz A. (2000). Surrogate time series. *Physica D*, 142, pp. 646-652.

Shadlen MN. and Newsome WT. (1998). The variable discharge of cortical neurons: implications for connectivity, computation, and information coding. *Journal of Neuroscience*, 18, pp. 3870-3896.

Shatz C. (1977). Abnormal interhemispheric connections in the visual system of Boston siamese cats: a physiological study. *Journal of Comparative Neurology*, 171, pp. 229-246.

Shuler MG., Krupa DJ., and Nicolelis M. A. (2001). Bilateral integration of whisker information in the primary somatosensory cortex of rats. *Journal Neuroscience*, 21, pp. 5251-5261.

Sillito AM., Jones HE., Gerstein GL., and West DC. (1994). Feature-linked synchronization of thalamic relay cell firing induced by feedback from the visual cortex. *Nature*, 369, pp. 479-482.

Singer W. and Gray C. (1995). Visual feature integration and the temporal correlation hypothesis. *Annual Review of Neuroscience*, 18, pp. 555–586.

Smith RL. (1973). The ascending fiber projections from the principal sensory trigeminal nucleus in the rat. *Journal Comparative Neurology*, 148, pp. 423-436.

Smith AT., Singh KD., and Greenlee MW. (2000). Attentional suppression of activity in the human visual cortex. *Neuroreport*, 7, pp. 271-277.

Srinivasan R., Russell DP., Edelman GM., and Tononi G. (1999). Increased synchronization of neuromagnetic responses during conscious perception. *Journal of Neuroscience*, 19, pp. 5435-48.

Steinmetz PN., Roy A., Fitzgerald PJ., Hsiao SS., Johnson KO., and Neibur E. (2000). Attention modulates synchronized neuronal firing in primate somatosensory cortex. *Nature*, 404, pp. 187-190.

Stone JV. (2002). Independent component analysis: an introduction. *Trends in Cognitive Science*, 6, pp. 59–64.

Song S., Miller KD., and Abbott LF. (2000). Competitive Hebbian learning through spike-timing-dependent synaptic plasticity. *Nature Neuroscience*, 3, pp. 919–926.

Sugitani M., Yano J., Sugai T., and Ooyama H. (1990). Somatotopic organization and columnar structure of vibrissae representation in the rat ventrobasal complex. *Experimental Brain Research*, 81, pp. 346-352.

Tettoni L., Gheorghita-Baechler F., Bressoud R., Welker E., and Innocenti GM. (1998). Constant and variable of axonal phenotype in cerebral cortex. *Cerebral Cortex*, 8, pp. 543-552.

Theiler J., Eubank S., Longtin A., Galdrikian B., and Farmer D. (1992). Testing for nonlinearity in time series: the method of surrogate data. *Physica D*, 58, pp. 77-94.

Tong S., Bezerianos A., Paul J., Zhu Y., and Thakor N. (2001). Removal of ECG interference from the EEG recordings in small animals using independent component analysis. *Journal of Neuroscience Methods*, 108, pp. 11–17

Tononi G., Sporns O., and Edelman GM. (1992). Reentry and the problem of integrating multiple cortical areas: Simulation of dynamic integration in the visual system. *Cerebral Cortex*, 2, pp. 310-335.

Tononi G., Sporns O., and Edelman G. (1994). A measure for brain complexity: Relating functional segregation and integration in the nervous system. *Proceeding National of Academy of Science USA*, 91, pp. 5033-5037.

Torrence C. and Compo GP. (1998). A Practical Guide to Wavelet Analysis. *Bulletin American Meteorology Society*, 79, pp. 61-78.

Toyama K., Matsunami K., Ohno T., and Tokashiki S. (1974). An intracellular study of neuronal organization in the visual cortex. *Experimental Brain Research*, 21, pp. 45-66.

Tran Y., Craig A., Boord P., and Craig D. (2004). Using independent component analysis to remove artifact from electroencephalographic measured during stuttered speech. *Medical Biology Engineering Computation*, 42, pp. 627–633.

Treisman A. (1996). The binding problem. *Current Opinion in Neurobiology*, 6, pp. 171-178.

Urrestarazu E., Iriarte J., Alegre M., Valencia M., Viteri C., and Artieda J. (2004). Independent component analysis removing artifacts in ictal recordings. *Epilepsia*, 45, pp. 1–8.

Vaadia E., Haalman I., Abeles M., Bergman H., Prut Y., Slovin H., and Aertsen A. (1995). Dynamics of neuronal interactions in monkey cortex in relation to behavioural events. *Nature*, 373, pp. 515-518.

Valverde F. (1966). The pyramidal tract in rodents. A study of its relations with the posterior column nuclei, dorsolateral reticular formation of the medulla, and cervical spinal cord (Golgi and E.M. observations). *Zeit Zellforsch*, 71, pp. 297-363.

Vanhatalo CJM., Palva MD., Holmes JW., Miller J., Voipio K., and Kaila A. (2004). Infralow oscillations modulate excitability and interictal epileptic activity in the human cortex during sleep. *Proceeding on National Academy Science USA*, 101, 5053-5057.

Varela F. (1995). Resonant Cell Assemblies: A new approach to cognitive functions and neuronal synchrony. *Biological Research*, 28, pp. 81-95.

Varela F., Lachaux JP., Rodriguez E., and Martinerie J. (2001). The brainweb: phase synchronization and large-scale integration. *Nature Review of Neuroscience*, 2, pp. 229-39.

Veinante P. and Deschenes M. (1999). Single- and multi-whisker channels in the ascending projections from the principal trigeminal nucleus in the rat. *Journal Neuroscience*, 19, pp. 5085-095.

Vigario R. (1997). Extraction of ocular artifacts from EEG using independent component analysis. *Electroencephalography Clinical Neurophysiology*, 103, pp. 395–404.

Vigario R., Särelö J., Jousmäki V., Hämmäläinen H., and Oja E. (2000). Independent component approach to the analysis of EEG and MEG recordings. *IEEE Transaction on Biomedical Engineering*, 47, pp. 589–593.

Viggiano A., Monda M., Viggiano A., Chiefari M., Aurilio C., and De Luca B. (2004). Evidence that GABAergic neurons in the spinal trigeminal nucleus are involved in the transmission of inflammatory pain in the rat: a microdialysis and pharmacological study. *European Journal Pharmacology*, 496, pp. 87-92.

Von der Malsburg C. (1981). The correlation theory of brain function. Internal Report, 81-2, Göttingen, Max-Planck-Institute for Biophysical Chemistry. Reprinted (1994) in, E. Domany, J. L. van Hemmen, & K. Schulten, (Eds.), *Models of neural networks II*, Berlin, Springer-Verlag, pp. 95-119.

Von der Malsburg C. (1995). Binding in models of perception and brain function. *Current Opinion in Neurobiology*, 5, pp. 520-6.

von Stein A. and Sarnthein J. (2000). Different frequencies for different scales of cortical integration: from local gamma to long range alpha/theta synchronization. *International Journal of Psychophysiology*, 38, pp. 135-141.

Wallstrom G., Kass R., Miller A., Cohn J., and Fox N. (2004). Automatic correction of ocular artifacts in the EEG: a comparison of regression-based and component-based methods. *International Journal of Psychophysiology*, 53, pp.105-119.

Welker C. (1971). Microelectrode delineation of fine grain somatotopic organization of SM1 cerebral neocortex in albino rat. *Brain Research*, 26, pp. 259-275.

Weiss S., Müller M., and Rappelsberger P. (1999). Processing concepts and scenarios: Electrophysiological findings on language representation. In A. Riegler, M. Peschl, and A. von Stein, editors, *Understanding Representation in the Cognitive Sciences*, Kluwer Academic / Plenum Publishers, pp. 237-245.

Weinberg RJ. and Rustioni A. (1989). Brainstem projections to the rat cuneate nucleus. *Journal of Comparative Neurology*, 282, pp. 142-56.

Weisberg RJ. and Rustioni A. (1976). Cortical cells projecting to the dorsal column nuclei of cats. An anatomical study with the horseradish peroxidase technique. *Journal of Comparative Neurology*, 168, pp. 425-437.

Woolston DC., La Londe JR., and Gibson JM. (1982). Comparison of response properties of cerebellar- and thalamic-projecting intercalar neurons. *Journal Neurophysiology*, 48, pp. 160-173.

Xu Y., Haykin S., and Racine R.J. (1999). Multiple window time frequency distribution and coherence of EEG using slepian sequences and hermite functions. IEEE Transaction on Biomedical Engineering, 46, pp. 861-866.

Yan J. and Suga N. (1996). Corticofugal modulation of time-domain processing of biosonar information in bats. Science, 273, pp. 1100-1103.

Zeki S. and Shippi S. (1988). The functional logic of cortical connections. Nature, 335, pp. 311-317.